

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1962.

THÈSE

299
N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Pierre RICHARD

Né le 12 mai 1928, à Paris-XIIe

Présentée et soutenue publiquement le

196

Contribution à l'étude
DU **LYSOZYME SALIVAIRE**

Président : M. DECHAUME, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & C^{ie}
29, RUE DEPARCIEUX, 29
PARIS — 1962

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Nom du Candidat : RICHARD

Prénom : JEAN-PIERRE

Date de soutenance :

Numéro d'ordre :

(Ces deux mentions seront complétées par le Service de la Bibliothèque)

RICHARD (JEAN-PIERRE) —
Contribution à l'étude du lyso-
zyme salivaire. — Paris, Imp.
R. Foulon et Cie, 1962, in-8°,
67 p., 18 fig.

(Thèse Médec. (Etat), Paris,
1962, N°).

RICHARD (JEAN-PIERRE) —
Contribution à l'étude du lyso-
zyme salivaire. — Paris, Imp.
R. Foulon et Cie, 1962, in-8°,
67 p., 18 fig.

(Thèse Médec. (Etat), Paris,
1962, N°).

RICHARD (JEAN-PIERRE) —
Contribution à l'étude du lyso-
zyme salivaire. — Paris, Imp.
R. Foulon et Cie, 1962, in-8°,
67 p., 18 fig.

(Thèse Médec. (Etat), Paris,
1962, N°).

RICHARD (JEAN-PIERRE) —
Contribution à l'étude du lyso-
zyme salivaire. — Paris, Imp.
R. Foulon et Cie, 1962, in-8°,
67 p., 18 fig.

(Thèse Médec. (Etat), Paris,
1962, N°).

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1962

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Pierre RICHARD

Né le 12 mai 1928, à Paris-XII^e

Présentée et soutenue publiquement le

196

Contribution à l'étude
DU LYSOZYME SALIVAIRE

Président : M. DECHAUME, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & C^{ie}
29, RUE DEPARCIEUX, 29
PARIS — 1962

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Debré (R.), Fey (B.), Gastinel (P.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Olivier (E.), Pasteur Valléry-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Quénu (J.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.).

DOYEN : Léon BINET. *Membre de l'Institut*

1^{er} ASSESSEUR : Jean VERNE — 2^e ASSESSEUR : Gaston CORDIER

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) PROFESSEURS TITULAIRES :

MM.

Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.), SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'Educat. phys. et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	N...
Histologie	VERNE (J.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (P.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	GALLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	HUGUIER (J.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	MILLIEZ (P.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	BOUDIN (G.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	BINET (L.), BARGETON (D.)
Physiologie et pathologie obstétricale	LEPAGE (F.)
Physique médicale	DOGNON (A.), DJOURNO (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	N...
Thérapeutique	CONTE (M.)

b) PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL :

Biochimie médicale	DESGREZ (P.), POLONOVSKI (J.)
Biologie médicale	BOURLIERE (F.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Hygiène et médecine préventive	DEPARIS (M.)
Parasitologie	BRUMPT (L.C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pharmacologie	LÉVY (Mlle J.)
Physiologie	PARROT (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.)



2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) PROFESSEURS TITULAIRES :

MM.

Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	MOUQUIN (M.)
Cliniques chirurgicales :	
<i>Beaujon</i> : LORTAT-JACOB (J.-L.) — <i>Cochin</i> : LÉGER (L.) — <i>Hôtel-Dieu</i> : PATEL (J.)	
— <i>Pitié</i> : CORDIER (G.) — <i>Saint-Antoine</i> : GOSSET (J.) — <i>Salpêtrière</i> : SICARD (A.)	
— <i>Tenon</i> : OLIVIER (Cl.)	
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	FÈVRE (M.)
Clinique chirurg. orthopédique et réparat. (Cochin)	MERLE D'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais) . .	GAUDART D'ALLAINES (F. DE)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laënnec) . .	MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades) . .	LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)	FUNCK-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphilit. (St-Louis)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)	CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard) .	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales :	
<i>Boucicaud</i> : LENÈGRE (J.) — <i>Broussais</i> : SOULIÉ (P.) — <i>Cochin</i> : JUSTIN-BESANÇON (L.) ;	
<i>BROUET</i> (G.) — <i>Hôtel-Dieu</i> : BARIÉTY (M.) — <i>Lariboisière</i> : SÈZE (S. DE) — <i>Pitié</i> :	
DREYFUS (G.) — <i>Saint-Antoine</i> : KOURILSKY (R.)	
Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)	DEBRAY (C.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	GENNES (L. DE)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales :	
<i>Baudelocque</i> : LACOMME (M.) — <i>Foch</i> (Suresnes) : MERGER (R.)	
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal) .	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	RENARD (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière) . .	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	LELONG (M.)
Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades) . . .	MARIE (J.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laënnec)	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière) .	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Pitié)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard) . .	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine) . .	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique	PADOVANI (P.)
Séméiologie médicale	DOMART (A.)
Séméiologie et clinique chirurgicales	POILLEUX (F.)
Clinique urologique (Necker)	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	TURPIN (R.)

b) PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL :

Médecine	BOUR (H.), LHERMITTE (F.), PEQUIGNOT (H.)
--------------------	--



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MA GRAND-MÈRE

A MA FEMME ET A MA FILLE

A MA MÈRE

A MON PÈRE

*Que pour mes chers parents, ces pages
soient le témoignage de ma profonde affec-
tion et de ma très sincère reconnaissance
pour leur aide soutenue et les encourage-
ments qu'ils n'ont jamais cessé de me pro-
diguer.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR DECHAUME

Professeur de la Chaire de Clinique de Stomatologie

à la Faculté de Médecine de Paris

Stomatologiste des Hôpitaux

Membre de l'Académie de Médecine

Officier de la Légion d'Honneur

Médaille Militaire - Croix de Guerre

*Qui a bien voulu nous faire l'honneur
d'accepter la présidence de cette thèse.*

Hommages respectueux.

A MON MAITRE

MONSIEUR LE DOCTEUR FLEURY

Chef de Service de Stomatologie à l'Hôpital Bichat

*En témoignage de notre reconnaissance
pour le précieux enseignement dont il nous
a fait bénéficier pendant notre séjour dans
son Service.*

A MON MAITRE

MONSIEUR LE DOCTEUR DUBOIS-PRÉVOST

Docteur ès Sciences

Chef du Laboratoire de Recherches Stomatologiques à l'Hôpital Bichat

*En remerciement pour les notions très
approfondies auxquelles il a bien voulu
nous donner accès.*

INTRODUCTION

La plus importante des affections dentaires, celle qui délabre le plus grand nombre de dentures humaines, et quel que soit leur âge, est, incontestablement, la carie. Le bureau régional de l'Europe de l'Organisation Mondiale de la Santé adoptait en 1960, parmi ses conclusions, la suivante concernant les enfants : la carie dentaire atteint 50 à 80 % des enfants européens, et sa fréquence est particulièrement élevée en Europe occidentale. La plupart des enfants ont des caries dès l'âge de trois ans, imputables surtout à la trop grande consommation de sucreries entre les repas.

La recherche d'agents inhibiteurs de caries a suivi, à la fois en laboratoire et en clinique, des voies aussi nombreuses que divergentes, variant avec les groupes de recherche. Certaines hypothèses se sont révélées fausses ou incomplètes : d'autres semblent pouvoir donner des bases à partir desquelles on peut espérer, par les moyens de recherche actuels, tendre vers une amélioration ou même une guérison des lésions de caries chez les générations à venir.

Les procédés, pour déterminer l'efficacité inhibitrice d'une substance quelconque et une évaluation précise de cette efficacité, ne peuvent être conçus sans connaissances approfondies des facteurs impliqués dans l'étiologie, leurs corrélations et leurs valeurs respectives. La mise en évidence et l'étude des causes, précisant les conditions dans lesquelles leur action se manifeste, peuvent amener à en démontrer le mécanisme. L'attention s'est portée sur le milieu buccal, sur les agents bactériens, sur l'importance de la constitution de l'individu lui-même, sur son régime, sur son milieu ambiant.

Le problème du pouvoir bactéricide du liquide buccal a été maintes fois soulevé sous différents aspects. S'il a été controversé, des preuves et des précisions de plus en plus nombreuses se sont accumulées. La défense immunologique naturelle a été mise en évidence lors de la découverte d'un processus anti-bactérien nouveau, par FLEMING. Et depuis, la fréquence des données nouvelles sur le lysozyme n'a cessé d'accroître son importance, principalement ces dernières années.

Ce travail se propose comme but, de présenter le lysozyme, et particulièrement une étude de son action dans le milieu buccal, après un rappel de données physiologiques sur le milieu salivaire.

L'appréciation exacte de la force inhibitrice de carie d'une substance quelconque est difficile, en raison :

- de la nature chronique des caries dentaires ;
- de leur étiologie complexe ;
- de l'impossibilité des tissus endommagés de régénérer ou de se remplacer.

Le plan pour des expériences cliniques ou de laboratoire, pour tester la puissance anti-carie de n'importe quelle substance, doit varier suivant la catégorie dans laquelle se classe l'efficacité potentielle de cette substance.

Les moyens d'appliquer la substance à tester, la durée de la période expérimentale, le nombre, l'âge et le type des sujets d'expériences et de contrôle, doivent être considérés sur une base individuelle pour chaque type d'expérience.

Les procédés pour éprouver la puissance anti-carie peuvent se diviser en quatre catégories générales :

- 1) des épreuves cliniques, où la prévention des caries est l'indice d'efficacité ;
- 2) des épreuves de diagnostic, chez les sujets humains, où un paramètre autre que celui des lésions de caries soit considéré comme un signe d'efficacité ; on peut classer celles-ci en trois catégories :
 - les expériences qui donnent une mesure de l'activité et de la concentration bactérienne dans la salive ;
 - la mesure des composants de la salive ;
 - la mesure de la concentration d'ions hydrogène ;
- 3) le système *in vitro*, conçu pour simuler les conditions buccales ;
- 4) l'expérimentation sur les animaux.

Seront envisagées ici des recherches sur les modifications apportées par le lysozyme sur des cultures microbiennes, puis celles apportées au milieu buccal en présence de sucre ; ce qui a conduit à étudier, d'une part, l'action du sucre, d'autre part, celle du lysozyme additionné au sucre, pour confronter les résultats. Enfin, suit une expérimentation animale.

CHAPITRE I

ÉTIOLOGIE DES CARIES DENTAIRES

Dans ce vaste domaine, nous ne relèverons que les renseignements importants pouvant servir de cadre à l'évaluation des propriétés inhibitrices de caries de certaines substances spécifiques.

La plupart des auteurs pensent que les destructions de la substance de la dent, que ce soit au début ou en cours d'évolution de carie, se font par des acides produits par des microbes. Pendant de nombreuses années, la participation bactérienne a été considérée comme essentielle au développement des lésions ; cette croyance était basée sur la complexité et l'ubiquité qui ont été mises en évidence par les recherches faites sur la flore buccale.

Le binôme pathologique de BERETTA, immédiatement adopté par FREY en 1930, comprend les facteurs externes et les facteurs internes ; ces derniers manifestant surtout leur importance quant à la défense de la dent contre les causes pathogènes. ROUSSEAU-DECELLE reconnaît ces deux sortes de caries.

FARGIN-FAYOLLE, en 1934, admet trois formes étiologiques de caries dentaires :

- une carie de cause primitivement interne, ou tropho-microbienne ;
- une carie primitivement externe, devenant secondairement trophique, ou chimico-parasitaire ;
- une carie uniquement externe.

De la première forme, il a donné la définition suivante : la carie est la résultante d'une action primitive et déterminante qui est le fait de l'odontoblaste et d'une action secondaire et aggravante qui est le fait du microbe.

Mais l'étiologie des caries dentaires est très complexe. Et toute la valeur de ces facteurs de contrôle n'est pas entièrement connue.

Lorsque les meilleures conditions favorisant la dégradation sont réunies, les dents de différents individus, et dans une proportion moindre, les dents d'un même individu, réagissent d'après un large tableau, en passant d'une résistance acharnée à une extrême tendance à la dégradation.

D'après ses travaux sur la cause des caries dentaires, James H. SHAW peut conclure :

- qu'au moins l'agent bactérien joue un rôle ;
- qu'un apport buccal d'hydrates de carbone est nécessaire ;
- que la forme physique et la nature chimique des hydrates de carbone sont des agents déterminants ;
- que des individus de la même espèce varient dans une grande mesure dans leur propension à la carie, par les caractères acquis héréditairement, et par la nutrition ;
- que la qualité, l'âge, la composition d'une dent jouent un rôle important dans la susceptibilité aux caries ;
- que la qualité et la quantité de salive ont un rapport avec l'incidence de caries.

CAUSES EXTERNES DE LA CARIE

Selon MILLER, les microbes de la bouche digèrent la trame organique des tissus durs de la dent, et attaquent, puis dissolvent les sels minéraux à l'aide des acides formés à la suite de la dégradation des hydrates de carbone. La carie est donc provoquée et aggravée par la formation d'acides organiques élaborés par les germes vivant dans le milieu buccal aux dépens des débris alimentaires. La teneur en acides organiques, acide lactique, acide acétique, acide citrique, acide pyruvique, acide succinique, augmente dans la salive, les tissus calcifiés de la dent sont attaqués, ce qui entraîne une destruction des couronnes dentaires de la périphérie vers le centre.

Cette théorie chimico-microbienne établie en 1890, quoique présentant des lacunes, est restée longtemps classique, car elle explique la majorité des faits observés. Elle reste valable, que l'on accorde une origine interne, externe ou mixte à la pathogénie de la carie. Beaucoup d'auteurs l'ont confirmée et ont apporté des précisions.

L'acide peut être introduit en nature dans la bouche ou sous forme d'aliments, particulièrement les fruits acides, tels que le citron et les groseilles, ou à fonction acide comme le sucre, ou peut-être produit

sur place par la décomposition de débris alimentaires subsistant en contact avec les dents. Pour MATHIS, les acides sont produits à partir des reliquats cariogènes des aliments hydro-carbonés selon le cycle suivant : amidon, amyloextrine, achrodextrine, maltose, glucose, acide lactique.

Si de nombreux facteurs entremêlés sont incriminés dans l'étiologie de la carie dentaire, la quasi-unanimité s'est faite sur l'influence particulièrement marquée du sucre.

Son action se ferait de deux façons (H. EULER) :

- par déséquilibre métabolique, s'il est en excès ;
- par diminution des sels minéraux de la salive, perdant ainsi son pouvoir tampon à l'égard des acides produits par la fermentation des mêmes sucres.

Des solutions concentrées de sucres divers dans la salive soustraient aux dents du calcium et de l'acide phosphorique, ceci étant surtout marqué sur les dents jeunes ¹. Cette action est accentuée en présence d'une fermentation lactique ou alcoolique, l'acide lactique étant le plus nocif.

Si des déminéralisations importantes sont provoquées par le sucre, *in vivo* il ne reste pas aussi longtemps en contact avec les dents que la bouillie de pain. Le sucre de canne et de betterave serait moins dangereux que le fructose, le lactose, le sucre de raisin, les bonbons acidulés étant les plus nocifs de tous.

LA FLORE BUCCALE

SON DEVELOPPEMENT — SON ROLE

La flore microbienne varie d'un sujet à l'autre, en fonction de sa santé, de son âge, du terrain, des habitudes alimentaires, de l'air ambiant, de l'état de la muqueuse et des dents, de l'hygiène.

A la naissance, la bouche est stérile ; ce n'est qu'à la sixième heure que les premiers micro-organismes y pénètrent ; les premiers germes sont des cocci et spécialement des streptocoques à partir de la dixième heure. Chez l'enfant, jusqu'à la première dentition, les espèces dominantes sont *Streptococcus salivarius*, aérobie et *Veillonella parvula*, anaérobie.

(1) G.N. PUPKE, Thèse, Bonn, 1941.

La flore bactérienne orale se modifie nettement avec l'apparition des dents : les spirilles et les spirochètes apparaissent à ce moment. Il y a identité de germes chez les enfants ayant leur première dentition et chez les adultes (BRAILOVSKI, LOUKEVITCH). Au moment où commence la vieillesse, avec la perte des dents, la flore complète persiste strictement dans les endroits voisins des dents qui restent. Chez les édentés, les germes anaérobies disparaissent, principalement les spirochètes et les bacilles fusiformes, et la flore retourne à la forme primitive du nourrisson. Le vieillard et le nourrisson ont donc une flore similaire.

Si la cavité buccale est tenue dans de bonnes conditions hygiéniques, la flore dominante est représentée par environ 70 % de cocci (dont 40 % de streptocoques), les 30 % restant étant constitués par des germes divers.

Dans les prélèvements de la salive parotidienne effectués sur des sujets sains, GOGUEL a noté la présence de cocci Gram positif en diplocoques et en chaînettes. La salive mixte contient évidemment tous les germes de la flore normale de la bouche.

Une bouche bien entretenue présentera une flore aérobie ou anaérobie facultative, alors que celles qui manquent d'hygiène ont une prédominance anaérobie stricte : et c'est la flore anaérobie que l'on rencontre d'une manière courante dans la plupart des affections aiguës.

Si la propreté n'est pas suffisante, les cocci descendent aux environs de 50 %. On voit alors prédominer les germes anaérobies tels que spirochètes, bacille fusiforme, bactéries de la putréfaction.

Dans une bouche soignée, les spirochètes devraient pratiquement manquer.

Le nombre de germes dans la cavité buccale n'est pas constant. Il présente dans les vingt-quatre heures des augmentations et des diminutions d'un rythme régulier. Cette particularité est appelée par les auteurs américains : *diurnal tide* ou marée diurne. Le plus grand nombre de germes s'observe le matin au réveil : après le premier repas, les germes diminuent, pour augmenter jusqu'au déjeuner de midi ; nouvelle et plus forte chute de germes après le repas et augmentation graduelle jusqu'au dîner du soir : diminution, puis augmentation successive des germes jusqu'au matin.

Chez l'adulte, la cavité buccale héberge à l'état normal de très nombreuses espèces microbiennes, et on peut affirmer que presque toutes les espèces connues, pathogènes ou saprophytes, ont été retrouvées.

Cependant, la flore buccale a une physionomie particulière. D'après PÉRET, les types de micro-organismes les plus fréquents sont : les

cocci, spécialement les streptocoques ; les spirochètes ; le groupe de Moro-Tissier ; les *leptotrichia* ; la flore de Veillon ; les diphtéroïdes. Ces germes forment le noyau fondamental de la flore normale de la bouche.

Les protozoaires ont été trouvés en grand nombre dans les gingivites paradontosiques (FISCHER, 1927) ; il semble qu'ils apparaissent secondairement dans les bouches mal tenues. Pour JIROVEC (1948), ces organismes n'exercent aucune influence et ne sont que les témoins du processus de désintégration organique accompagnant les manifestations inflammatoires de la cavité buccale. D'après GOADBY-WILLINGS, ils pourraient même remplir un rôle utile dans le nettoyage de la cavité buccale.

Les streptocoques et parfois les staphylocoques joueraient, pour VINCENT, un rôle principal et spécial dans la pyorrhée alvéolo-dentaire.

On doit penser que beaucoup de maladies infectieuses ont pour porte d'entrée la cavité buccale et, d'une manière générale, la voie rhino-pharyngée : telles la fièvre typhoïde, les dysenteries amibiennes et bacillaires, la scarlatine, la diphtérie, les méningites cérébro-spinales, la coqueluche, la pneumonie. L'élimination du virus rabique par la salive est établie depuis longtemps. Et MANOUELIAN a montré que les glandes salivaires subissaient en pareil cas des modifications importantes. D'après FLEXNER et LEVIS, le virus de la poliomyélite épidémique s'éliminerait aussi bien par les voies salivaires que par la muqueuse nasale. NETTER pense que, dans l'encéphalite léthargique, le virus est fixé sur les cellules nerveuses, et qu'il s'élimine de temps à autre par la salive. Enfin, on sait le rôle que joue la salive comme véhicule des ultra-virus dans la rougeole, les oreillons et la grippe. Et la notion de porteurs de germes est capital dans la diphtérie, la méningite à méningocoques.

Chez l'adulte, la flore microbienne buccale résulte d'une sélection naturelle déterminée par les facteurs salivaires, les conditions anatomiques, la nourriture, la mastication et la concurrence entre les germes par symbiose et antibiose.

WEIGMANN et NOESKE estiment que le pouvoir antagoniste existe réellement et s'extériorise vis-à-vis de bactéries pathogènes et saprophytes. HÖLZL admet également son existence, ainsi le streptocoque exerce un puissant effet antagoniste sur le bacille diphtérique ; il y aurait des substances sécrétées qu'on doit rendre responsables de cette action : on peut les isoler par l'éther à partir du bouillon de culture. Cet effet n'a qu'un rôle réduit dans la salive, mais indiscutable, et gêne même certaines expérimentations d'inhibition.

Le milieu buccal groupe toutes les conditions favorables pour l'apparition et le développement d'une flore microbienne des plus variables et des plus complètes : la température est humide et proche de 37°C, considérée constante sous la langue, et une ventilation est entretenue par la respiration et la phonation.

Les replis muqueux, les espaces inter-dentaires, les dents cariées sont favorables à la rétention des traces de bols alimentaires qui vont persister dans la cavité buccale. Ces reliquats se matérialisent sous forme d'enduits qui s'attachent aux dents et s'infiltrant dans toutes les anfractuosités. L'importance de la morphologie de l'arcade dentaire dans la rétention des hydrates de carbone et des bactéries trouve confirmation dans les travaux d'ANDERSON. Les reliquats reçoivent l'apport des cellules épithéliales desquamées, des leucocytes détruits, des produits organiques provenant des sécrétions muqueuses et salivaires, et sont ainsi propices à l'entretien d'un véritable milieu de culture pour l'ensemble des germes, que ce soit en aérobiose, ou en anaérobiose.

BOIVIN indique que, si un homme consomme environ le 1/100^e de son poids en matières alimentaires, une bactérie consomme la valeur de son propre poids ; ce fait est dû au pouvoir extrême de multiplication des germes qui se divisent toutes les vingt à trente minutes.

Le contact parfait de la plaque contenant les micro-organismes et leurs sous-produits avec la surface de la dent, permet d'avoir un lieu de prédilection pour le début d'une carie.

Le tartre, substance amorphe ou cristalline, se dépose en zones concentriques. Mélange de colloïdes, de cristalloïdes, de débris alimentaires et de bactéries, il se transforme en une masse dure qui s'accumule plus ou moins rapidement suivant les conditions locales. Les reliquats hydro-carbonés sont souvent à l'origine d'une acidogénèse de durée suffisante pour provoquer une déminéralisation de la surface des dents, et une aggravation des caries existantes par accélération du processus de cavitation.

STEFAN décrit une méthode pour mesurer le pH d'une plaque dentale *in situ* avec des électrodes d'antimoine, avec une exactitude de 0.2 pH unité. Tandis que ce procédé était employé par d'autres chercheurs avec des résultats comparables, il faut noter que les valeurs obtenues avec des électrodes d'antimoine peuvent être déformées par la présence d'agents oxydants et réducteurs, des radicaux acides et des ions métal. STEFAN applique cette technique avant et après que les malades aient rincé leur bouche avec une solution de glucose à 10 %. Les malades ayant montré la plus grande activité de caries pendant l'année ou les deux années précédentes, étaient ceux qui montraient la plus longue et la plus grande diminution de pH dans la plaque.

FOSDICK et coll. ont développé une technique où le matériel d'expérience, plaques, parcelles de dents, débris de lésions de carie étaient enlevés avant un rinçage au sucre ou une absorption de sucre candi ; de cinq à trente minutes après, ils prennent une mesure du pH entre des électrodes de verre et de calomel. Quand un sujet rinçait sa bouche avec une solution de saccharose à 50 %, le pH de ses éléments était beaucoup moins élevé que celui de ses échantillons recueillis avant le rinçage. La différence entre les valeurs de pH fut prise comme contrôle et interprétée comme le résultat d'une recrudescence d'activité bactérienne dans la plaque, causée par l'augmentation du sucre disponible pour l'activité des bactéries.

La fermentation anaérobie produit beaucoup moins de calories que l'oxydation en aérobie, et plus les déchets servant d'apport nutritif aux microbes seront riches en hydrates de carbone, plus les produits de la digestion microbienne seront riches en acide.

Il a été démontré que la fermentation alcoolique est plus dangereuse que la fermentation lactique. L'atmosphère sucrée entraîne indiscutablement la carie des confiseurs ; la plus grande fréquence de la carie se trouve chez les enfants consommant beaucoup de sucreries.

Les recherches systématiques des auteurs américains ont montré une pullulation considérable des germes acidogènes dans la bouche de sujets porteurs de caries dentaires.

Déjà SÉGUIN, de l'Institut Pasteur, avait noté que :

« Tout microbe qui peut produire une quantité notable d'acides aux dépens des hydrates de carbone, et qui peut s'adapter à la vie anaérobie, possède les qualités requises pour décalcifier les dents. »

BUNTING va jusqu'à prétendre que le milieu buccal joue un rôle beaucoup plus important que les facteurs de résistance propre de la dent, et cite des travaux de l'Association du Michigan pour la recherche sur la carie dentaire, à savoir que la réduction dans le régime alimentaire, soit du sucre seul, soit du sucre associé aux amylacées, selon « le degré de susceptibilité à la carie », réduit la proportion de bactéries acidophiles dans la bouche, au point de l'amener à zéro, et que, dans ce cas, la carie est complètement arrêtée. Et JAY préconise un régime pauvre en hydrates de carbone.

Récemment, une preuve directe démontra que les micro-organismes étaient les principaux agents étiologiques dans la production des lésions de caries. Dans le laboratoire de LOBUND, des rats sujets à carie reçurent un régime cariogène, mais dans des conditions stériles ; ils furent prélevés avant la fin de la gestation et élevés dans des atmosphères et avec une nourriture dépourvues de germes. ORLAND

et coll. observèrent alors que les lésions de carie ne se développaient pas. Tandis que chez des rats de même espèce maintenus au même régime dans un laboratoire contaminé par les microbes, les lésions de caries typiques se produisaient rapidement.

Des études sur les sujets humains et des recherches sur des animaux de laboratoire impliquent en particulier, parmi les bactéries acidogènes, le lactobacille acidophile.

Malgré les difficultés techniques que présente ce genre d'expérience, ORLAND put noter la production de caries typiques par inoculation buccale d'une culture de bacilles entérocoques à des rats blancs stériles. Des études seraient en cours avec le lactobacille.

En effet, une corrélation a été relevée entre le nombre de ces germes présents dans la salive et la susceptibilité des dents à la carie. Des auteurs ont enregistré des diminutions brusques de germes, lorsque la bouche était remise en excellent état, et on tend à penser que le nombre de lactobacilles reflète celui des caries et leur étendue.

WALCH et coll. mesurèrent la quantité d'alcali normal nécessaire pour neutraliser l'acide formé durant une incubation de quatre heures de mélange de salive et de glucose. Dans un examen de 2.000 échantillons de salive provenant de 50 étudiants pendant une période de deux ans, une corrélation de 86 % entre la production d'acide et le développement des caries dentaires fut observée : de même qu'une forte corrélation entre la quantité d'acide produit et le nombre de lactobacilles de la salive avant incubation. Les expériences sur la dissolution de l'émail, le titrage colorimétrique de l'acide sont à la base des mesures de la quantité d'acide produite par les micro-organismes dans la salive. Ainsi, on peut s'attendre à ce qu'il y ait une corrélation assez forte avec le nombre des lactobacilles, mais ces expériences ne peuvent être plus concluantes, puisqu'elles ne font pas de discrimination entre les produits métaboliques des lactobacilles et ceux d'autres micro-organismes générateurs d'acide dans la salive.

Pour divers auteurs, le rôle néfaste de la salive s'expliquerait par une incapacité à remplir normalement ses fonctions, d'où amoindrissement dans la formation et la maturation de l'émail, et surtout mauvaise inhibition des bactéries et enzymes protéolytiques ; des expériences ont été faites pour tenter d'élucider le mécanisme.

Quelle que soit la pathogénie considérée, on reconnaît aujourd'hui avec certitude le mécanisme local dans la production de caries dentaires et la responsabilité du sucre.

Les lésions dentaires ainsi produites sont irréversibles, et si l'on doit admettre que la carie dentaire résulte d'un ensemble de causes internes et externes, l'acidogénèse microbienne est un facteur essentiel de détermination ou d'aggravation.

„DÉFENSES CONTRE LA CARIE

Aux agressions, qui viennent d'être envisagées, contre la dent, on peut opposer les défenses de la dent elle-même, et celles qui se trouvent présentes dans le milieu buccal où vit la dent.

Les substances qui peuvent influencer la carie peuvent se ranger dans deux catégories générales, basées sur le temps où elles sont actives pour rendre la dent capable de résister plus efficacement. Ce sont, d'une part, les substances qui peuvent provoquer des changements physiques et chimiques dans la structure et la composition de la dent, et dans son milieu physiologique pendant la croissance. D'autre part, celles qui peuvent exercer une influence après la croissance de la dent, sans effet sur sa structure, soit directement sur la dent, ou un composant du milieu buccal, ou sur la dent par l'intermédiaire de son milieu physiologique.

DEFENSES DE LA DENT ELLE-MEME

Des différences inhérentes dans la propension à la dégradation des dents peuvent avoir deux origines. Ce peut être des caractères réellement transmis par hérédité, tels que ceux des espèces de rongeurs sélectionnés, ou des caractères donnés par la nutrition, acquis pendant la période de développement de la dent individuelle. Actuellement, les influences optima de la nutrition semblent s'exercer principalement en produisant une dent réfractaire aux caries, avec des changements de structure et de composition. Cependant, la possibilité que l'animal lui-même soit résistant aux caries par l'influence de l'organisme, plutôt que par des dents spécifiquement réfractaires, ne doit pas être éliminée.

Dans les groupes humains, il est pratiquement impossible de déterminer jusqu'à quel point la susceptibilité aux caries d'un individu est fonction de sa constitution héréditaire, ou du régime suivi pendant le développement de ses dents, ou les deux à la fois. Les modèles des menus alimentaires des races subissent les influences, telles que celle de la nature, de la nourriture que l'on peut se procurer, des pratiques religieuses, des habitudes culturelles, et ont des répercussions sur la susceptibilité aux caries tout à fait indépendantes des facteurs génétiques. Il est probable que le meilleur exemple de ces rapports réciproques concerne les citoyens de l'Inde, qui ont une incidence relativement faible de caries dentaires. La dentine et l'émail d'habi-

tants de Delhi et de Bombay, révélèrent contenir à l'observation des quantités de fluor suffisamment élevées pour leur conférer un haut degré de résistance à la carie. Ainsi l'incidence de caries peu élevée parmi cette population peut s'attribuer en partie à une haute teneur en fluor, disponible dans le milieu ambiant, ou à une grande absorption de fluor due à un régime déficient en calcium, ou à une utilisation de fluor particulièrement active qui pourrait avoir une origine héréditaire.

En effet, l'influence exercée sur le développement de la dent, et sur laquelle on possède la meilleure documentation, est celle de l'ion fluor. La possibilité de changer la composition d'une dent et sa propension à la carie par des procédés de régime imposé durant la calcification, fournit un grand et large domaine à la recherche d'agents inhibiteurs de caries d'un seul type.

Avec des animaux d'expérience, on a pu constater qu'une déficience dans la nutrition, ou un manque d'équilibre, peut influencer une forme ou une dimension de dent qu'autrefois on croyait fixées par la constitution héréditaire. De tels changements de structure peuvent modifier la susceptibilité aux caries bien que la constitution héréditaire demeure constante.

Des tendances héréditaires à la résistance aux caries peuvent agir : soit par la production d'une dent réfractaire aux caries, soit par le maintien des constituants du milieu physiologique, après le développement qui permettra à la dent de résister aux agressions buccales. Ce domaine fournit un terrain fertile à de nombreux travaux biochimiques et physiologiques, sur des espèces présentant des degrés différents de susceptibilité. Le but idéal serait une différenciation en termes physiques et biochimiques précis, entre les sujets avant des propensions héréditaires variables aux caries.

La période qui suit l'éruption d'une dent présente une propension particulière à la carie. En effet, lorsqu'une dent fait irruption dans la cavité buccale, sa susceptibilité à la carie semble être plus grande qu'à une époque ultérieure de sa vie fonctionnelle. Si le milieu buccal d'animaux d'expérience n'était pas cariogène pendant les premières semaines suivant l'apparition de la dent, la proportion de lésions causées par un milieu fortement cariogène à une période ultérieure était de beaucoup diminuée.

D'après des données expérimentales, il est clair qu'une « maturation » des dents se produit durant la période suivant l'éruption. La salive participe évidemment à cette maturation : plus tôt on enleva les glandes salivaires des rongeurs, plus sérieuse fut la détérioration lorsque d'autres facteurs demeuraient constants.

DEFENSES PROVENANT DU MILIEU BUCCAL

Recherche d'un agent inhibiteur de la carie dans la salive

Pour KESEL, la propriété inhibitrice de la salive proviendrait de sa teneur en azote ammoniacal, qui résulterait de la destruction de l'urée salivaire et de la désamination oxydative des acides aminés. Le rôle de l'azote ammoniacal rejoindrait donc celui du pouvoir tampon, en favorisant l'alcalinisation et en entravant ainsi l'action des microbes à pH optimum acide.

Théoriquement, un agent inhibiteur de carie devrait empêcher la formation de la plaque. Si cela est impossible, on doit résoudre le problème de perméabilité : pour que puisse se produire la disparition des sous-produits du métabolisme bactérien, la plaque comme une membrane doit être traversée. De la même façon, des substances alimentaires pour les micro-organismes et les anti-métabolites en puissance doivent traverser la plaque en venant de l'extérieur.

A l'endroit où s'est déjà déclarée une lésion de carie, le problème de la perméabilité augmente avec la profondeur croissante de la carie. Ainsi, n'importe quel agent inhibiteur de carie, capable d'activité dans les conditions du milieu buccal, doit pouvoir pénétrer à travers la plaque dentale, à travers la substance de la dent cariée et même à travers la substance de la dent qui, cliniquement, semble saine.

On peut espérer obtenir une diminution des lésions de carie par divers procédés, à savoir :

- la diminution de la concentration des hydrates de carbone dans la salive en contact avec la surface des dents ;
- la réduction de la fréquence des contacts des surfaces dentaires avec des hydrates de carbone fermentescibles ;
- le raccourcissement du temps de ce contact ;
- le remplacement des hydrates de carbone rapidement fermentescibles par des hydrates de carbone mettant longtemps à fermenter ;
- l'inhibition de la fermentation bactérienne dans la cavité buccale par :
 - l'introduction d'un agent empêchant les germes de vivre ;
 - la suppression de substance indispensable à leur vie ;
- l'usage d'un inhibiteur pour empêcher la formation d'acide par les micro-organismes ;
- la neutralisation de l'acide avant qu'il ne puisse nuire par divers procédés d'hygiène buccale, ou la modification de la salive dans sa quantité ou son pouvoir tampon.

L'activité métabolique des micro-organismes est l'un des points d'attaque le plus vulnérable, soit par l'action d'une substance spécifique inhibitrice, soit par l'excitation de faunes microbiennes antagonistes de la flore productrice de caries. Toute influence de l'un ou l'autre type devra s'exercer et être opérante dans des conditions assez restreintes physiques et chimiques.

CHAPITRE II

LE MILIEU SALIVAIRE ET LA CARIE DENTAIRE

LE LIQUIDE BUCCAL

SA CONSTITUTION

Le liquide buccal se compose de nombreux éléments disparates ; mise à part la salive proprement dite, on trouve des cellules et des apports alimentaires déterminant d'importantes variations. Son pH se maintient normalement dans des limites étroites.

Des principes anti-bactériens relevant de l'immunité acquise, tels que les anti-corps, ou de l'immunité naturelle, tels que le lysozyme et les inhibines, modifient la flore microbienne très riche.

La salive totale est la somme de plusieurs sécrétions : elle est formée principalement par la sécrétion des glandes parotides, séreuses, donnant une salive claire, non visqueuse ; des glandes sous-maxillaires, séro-muqueuses donnant une salive à l'aspect limpide, filant, visqueux ; des glandes sub-linguales, muqueuses, donnant un liquide transparent, épais, filant, très visqueux. Il faut ajouter les sécrétions des glandes séreuses et muqueuses disséminées dans la muqueuse de la cavité buccale.

La sécrétion salivaire normale est variable selon les sujets ; la majorité des auteurs pensent que son volume en vingt-quatre heures varie de 500 à 1.500 cm³. Dans certains états pathologiques, le volume est augmenté ou bien diminué jusqu'à la suppression totale même.

GOGUEL pense, avec KUCK, que la sécrétion parotidienne ne représente que 30 % de la salive totale.

Du point de vue chimique, la salive se présente comme une solution aqueuse de sels minéraux très dilués, de corps organiques et de gaz. Les constituants minéraux dissous comprennent parmi les cations, le calcium, le magnésium, le sodium, le potassium et le fer ; parmi les anions, les chlorures, les fluorures, les phosphates, les nitrates et

les carbonates. Mais il n'a pas été trouvé de relation nette entre les différentes valeurs des constituants minéraux et les états pathologiques, notamment la carie dentaire.

Les composés organiques font partie des groupes des protides, les plus abondants, des glucides, des lipides, des vitamines, des hormones, des enzymes, auxquels s'ajoutent les sulfocyanures, l'urée et l'acide urique.

ROLE DE LA SALIVE DANS LA DEFENSE CONTRE LA CARIE

La salive assure l'intégrité du milieu dans lequel vit la dent, grâce à son humidité, à son pH et à sa réserve alcaline, à ses chlorures qui jouent un rôle important dans le maintien d'une pression osmotique convenable pour la vie des cellules, et à ses différentes propriétés antiseptiques.

La salive apporte à l'émail et à la dentine un certain nombre d'éléments minéraux nécessaires à leur métabolisme, à leur formation et à la maturation de l'émail.

Elle protège la dent en déposant sur elle un léger film de mucine inattaqué par les acides et les enzymes protéolytiques.

Parmi les protides, la mucine représente un produit de sécrétion au taux de 0,2 gramme % environ dans la salive mixte. Elle a un rôle mécanique évident dans la mastication où elle facilite les glissements, tout en maintenant les particules broyées en pâte plus ou moins liée. Elle aurait également un rôle important dans le maintien de la propreté buccale, d'une part par sa propriété essentielle de précipiter par les acides, même à froid, d'autre part, par un pouvoir bactéricide dû à un lysozyme protéolytique (FLEMING et ALLISON, GOVAERTS). Et par sa viscosité très prononcée, elle englobe divers germes microbiens, les isole les uns des autres et en fait un magma peu propice pour une culture intensive.

• EQUILIBRE ACIDE - BASE

Le liquide buccal empêche la solubilisation de l'émail par son pH, son pouvoir tampon, sa viscosité, la valeur du produit ionique de ses éléments Ca et P assez voisine de celle qui définit la solution saturée de phosphate tricalcique.

• VALEUR DU pH

M.C. BLEY a démontré que chez le nouveau-né, la salive est normalement acide ; cette acidité persiste à des degrés divers.

STERN, sur une statistique portant sur une centaine d'enfants normaux, trouve une valeur de pH variant de 6,6 à 7,0. GANS trouve des limites de 6,4 à 7,0 ; POPPER et HAFNER, ainsi que HUBBEL, les trouvent de 6,7 à 7,5. Ces auteurs ont opéré selon la méthode colorimétrique par comparaison avec des tampons. SAENS DE LA CAZADA a trouvé que la salive des enfants a un pH supérieur à 7, les garçons ayant une salive en général plus alcaline que les filles, cela à l'état normal comme à l'état pathologique. Récemment, DECHAUME et VISCONTINI ont étudié le pH sur la salive mixte des enfants à l'aide d'un appareil potentiométrique à électrode de verre. Ces auteurs ont trouvé que le pH des enfants n'offrait pas de différence avec celui des adultes et variait entre 6,70 et 7,40, la moyenne de pH étant de 7,07. Il n'a pas été trouvé de différence entre le pH des enfants sans carie et le pH des enfants atteints de caries ou de mélanodontie. Le pH d'enfants pathologiques étant nettement inférieur à 7.

Chez l'adulte, SKOSOWSKI a vérifié que le milieu intra-buccal est normalement acide pour la grande majorité des individus. Il a fait ses recherches en se servant de la technique de l'électrode à antimoine en différentiel (Vles), modifiée par l'usage d'électrodes intra-buccales. Cet auteur a ainsi observé trois zones acides : les orifices des canaux de Sténon, des canaux de Wharton et le vestibule supérieur ; et une zone alcaline : le vestibule inférieur.

Pour le pH parotidien, les résultats diffèrent selon les auteurs. NITESCU-GEORGESCU pensent qu'en période de repos, la glande parotide laisse s'écouler un liquide légèrement acide à pH 4 ou 5. Par contre, pendant le fonctionnement de la glande, ces auteurs ont observé que la salive devient alcaline, et son pH est alors aux alentours de 7,6.

SCHMIDT-NIELSEN conclut de ses travaux que le pH de la parotide droite est semblable à celui de la parotide gauche, et qu'il est toujours compris entre 5,52 et 6,13, donc légèrement acide.

Les résultats de GOGUEL diffèrent sensiblement des précédents. Il a opéré sur des prélèvements obtenus avec ou sans excitation, chez des sujets atteints de diverses maladies. La méthode employée a été la méthode colorimétrique à l'aide de la gamme de Bruère. Le plus bas pH obtenu a été pH 6, et le plus haut, pH 8,6. En moyenne, le pH variait entre 6,8 et 7,5.

Le pH de la salive mixte, d'après les travaux récents, oscille entre 6,70 et 7,40, avec une moyenne de 7,07 chez les hommes et 7,09 chez les femmes, les sujets étudiés étant en bonne santé apparente et sans carie dentaire (DECHAUME et VISCONTINI).

Variable d'un sujet à l'autre, il est remarquablement constant entre certaines limites, aussi longtemps qu'un individu est en bonne santé

(POPPER et HAFFNER, GROSSMANN et BRICKMANN, DECHAUME et VISCONTINI). En effet, bien que constant, le pH peut subir, à certaines heures et à certains jours, des variations normales. Mais ces variations se font à l'intérieur de certaines limites :

- ainsi, il s'abaisse pendant la nuit (GROSSMANN et BRICKMANN);
- il s'abaisse à la fin des repas, pour devenir rapidement normal (HAWKINS, MATHUR, GROSSMANN, BRICKMANN).

Par contre, s'il était jusqu'ici admis (BUNZELL) que le pH salivaire variait avec l'âge et qu'il tendait à devenir de plus en plus acide quand nous vieillissons, DECHAUME et VISCONTINI ont montré qu'il n'y avait pas, en réalité, de variations nettes du pH salivaire suivant l'âge du sujet.

La grossesse abaisse sensiblement la valeur du pH (6,7) (DECHAUME et VISCONTINI).

Il n'y a pas de corrélation entre le pH et la carie dentaire (OPPENOT, HULIN, BLOOMFIELD et HUCK, HUBBEL, BUNZELL, SNERDLOVE, DECHAUME et VISCONTINI).

Il est modifié au cours d'états pathologiques, lorsque l'état acide-base du sang est troublé, ou au cours de lésions buccales, à condition qu'elles soient sous la dépendance d'une altération de l'état général.

• LA RÉSERVE ALCALINE est constituée principalement par les carbonates, et agit surtout sur les acides. Elle est toujours comprise entre 15 et 20 volumes.

• LA STABILITÉ ACIDE - BASE DE LA SALIVE, due au pouvoir tampon, s'oppose à toute modification propice au développement des germes pathogènes dans le milieu de culture buccale.

Le pouvoir tampon de la salive dépend des carbonates, des phosphates, des protéines et de la mucine. Il a en outre une action sur les offensives alcalines par ses phosphates et les protéines qui sont amphotères. Sa protection, plus lente à se déclencher que celle de la réserve alcaline, est plus profonde que celle-ci. Les quantités tamponnées d'ions OH par la salive mixte ou la salive parotidienne, pour une solution NaOH N/100, sont comprises normalement entre 5 et 15 cm³ pour 100 cm³. Les quantités tamponnées d'ions H, pour une solution HCl N/100, sont normalement comprises entre 5 et 20 cm³ pour 100 cm³.

Le pouvoir tampon de la salive est relativement stable et se maintient constant aussi longtemps que le sujet est en bonne santé. Par contre, les variations sont marquées d'un individu à un autre. Il n'est influencé ni par l'âge des sujets, ni par la carie dentaire, il ne réagit

qu'aux troubles de l'état général et à l'état puerpéral ; sa valeur est alors nettement abaissée.

Les variations de l'alcalinité titrable de la salive après rinçage de la bouche avec du glucose, ont été recherchées par J.C. MURACCIOLE.

L'auteur a étudié le comportement des alcalins de la salive (réserve alcaline, pouvoir tampon) après avoir fait faire, à un groupe de 51 enfants, un rinçage de bouche avec du glucose à 20 %. Il a constaté que leur concentration diminue de 31 % immédiatement après que le rinçage ait été effectué, et qu'elle remonte lentement, jusqu'à atteindre la normale, quarante-cinq minutes après le commencement de l'expérience.

Ces résultats permettent de supposer que le pouvoir tampon de la salive est la première barrière défensive dont dispose l'organisme pour faire face à l'invasion des acides dans la cavité buccale, tandis que la plaque dentaire serait seulement un élément cariogène manquant de pouvoir tampon.

- SON POUVOIR OXYDO-RÉDUCTEUR s'oppose à la pullulation microbienne. D'après VLES, il serait dans la salive mixte de 24,5 millivolts en bouche ouverte, et s'abaisserait à 20,8 millivolts en bouche fermée.

- SUBSTANCES BACTÉRICIDES DU MILIEU BUCCAL

La salive, de façon évidente, joue un rôle important dans la préservation des dents. Chaque fois que les glandes salivaires principales, ou les parotides, les sous-maxillaires, étaient enlevées chez la progéniture des lignes de rongeurs expérimentales, les unes résistant à la carie, les autres y étant sujettes, les taux d'attaque par la carie augmentèrent sensiblement.

En examinant 20 malades adolescents et 107 étudiants dentaires, un rapport entre la réduction du flux de salive et l'incidence croissante des caries dentaires a été observé. Le même fait fut rapporté pour un groupe de recrues navales.

On a rapporté aussi le cas d'un enfant dont les glandes salivaires fonctionnaient de façon déficiente, et chez lequel on constata une très forte apparition de caries dentaires. De plus, de fortes radiations thérapeutiques pour le cancer buccal sont suivies régulièrement par des caries serpigneuses ; la destruction des glandes salivaires peut être une des causes probables. Le nettoyage de la bouche, l'action anti-bactérienne ont été suggérés comme voies d'action possibles de la salive.

Examinant l'ensemble de la défense anti-bactérienne du milieu buccal, on peut admettre actuellement, avec CAFLISCH, les processus suivants :

1) *Une action purement mécanique d'élimination des germes et des agents irritants, accompagnés d'une dilution.*

Il apparaît que la salive joue vraisemblablement un rôle bienfaisant sur la denture, lorsque l'on considère la fréquence des caries dans les syndromes xérostomiques.

La chasse salivaire, aidée par les mouvements de la langue et des joues, assure un rôle mécanique important en nettoyant la cavité buccale. Elle élimine une partie des reliquats alimentaires, des produits de desquamation de la muqueuse. L'élimination des germes et agents irritants est facilitée par le pouvoir mouillant de la salive et par la mucine qui, en précipitant, englobe les germes.

La salive assure l'intégrité de la muqueuse, ce qui permet une desquamation régulière, les cellules desquamées entraînant avec elles des microbes.

2) *La phagocytose et les anticorps.*

3) *L'effet bactéricide :*

a) Des substances provenant des leucocytes : les endolysines (PETERSON) et les leucines (SCHNEIDER).

Ces bactériolysines sont précipitées par l'alcool, l'éther et le sulfate d'ammonium. Elles résistent à la chaleur et à la dessiccation. De nombreux germes saprophytes, notamment certaines races de staphylocoques et même quelques microbes hautement pathogènes, comme les bacilles typhiques et le bacille de Koch, seraient sensibles à ces bactériolysines.

b) Les sulfocyanures trouvés dans la salive sont à un taux se situant toujours autour de quelques milligrammes pour 100 cm³ : 6 à 99 milligrammes pour LEHMANN, ROBIN, MOGLIA. La concentration varierait avec la concentration de la salive : elle proviendrait des glandes parotides et sous-maxillaires, et n'aurait aucun rapport avec l'état des dents. Les sulfocyanures seraient plus abondants chez la femme que chez l'homme, chez les fumeurs que chez les non fumeurs, à la fois dans la salive et dans le sang. Ils n'auraient que de très faibles propriétés antiseptiques.

c) *L'anisotonie.*

4) *L'antagonisme bactérien* (VALUDA, 1888 ; DIETRICH, 1890 ; PRICA).

- 5) *L'activité anti-bactérienne des aliments et des boissons absorbés*, tels que alcool, épices, végétaux de la famille des poireaux, fournit une immunité (KOLLE, LAUBHEIMER, VOLLMAR).
- 6) Ajoutons la *callicréine de la salive* qui, en se transformant en histamine, exerce une influence sur la circulation capillaire. Cette transformation se fait dans un milieu acide et peut donc être réalisée par les bactéries acidogènes.

En 1934, DOLD fait part de sa découverte des inhibines et des mutines dans le liquide salivaire au cours de ses recherches avec WEIGMANN, en partant de l'hypothèse suivante : c'est au niveau des surfaces que se passent les premiers phénomènes de l'infection, donc déjà sur la couche la plus externe, formée par le liquide de recouvrement sécrété par les cellules vivantes. Ils furent ainsi amenés à étudier le rôle du liquide buccal. C'est ainsi que DOLD put définir les substances susceptibles d'inhiber les micro-organismes.

- 7) Il nomma *inhibines* toutes celles se trouvant dans ou sur le corps d'êtres supérieurs, et susceptibles d'inhiber la croissance des organismes inférieurs, spécialement les micro-organismes sans les tuer ou les lyser.

Elles sont thermostables et non filtrables ; de courte conservation, leur activité ne persiste qu'aussi longtemps qu'elles sont vivantes : après huit à dix jours, l'effet a complètement disparu ; elles sont très sensibles à la dessiccation. L'action est identique sur les bactéries pathogènes et saprophytes.

- 8) DOLD désigna sous le nom de *mutines* toutes les substances qui ont un effet de transmutation sur les micro-organismes, transformant les bactéries pathogènes en bactéries apathogènes pour l'homme. Elles sont encore plus fragiles que les précédentes : une dilution par le chlorure de sodium, par exemple, les inactive.

L'action de ces deux sortes de substances s'est révélée très intense dans le liquide buccal, et constitue un mécanisme anti-bactérien différent de tous ceux décrits avant lui.

- 9) Enfin, le *lysozyme*, qui est l'objet principal de ce travail.

L'étude comparée de ces trois dernières substances du liquide buccal montre que le lysozyme est la plus importante, en raison de la rapidité et de la violence de son action.

CHAPITRE III

LE LYSOZYME

Par une communication du 12 février 1922, Sir Alexander FLEMING attirait l'attention des membres de la *Société Royale de Londres*, sur une substance présente dans les tissus et les sécrétions du corps, et qui jouit de la remarquable propriété de lyser extrêmement rapidement certaines bactéries. Le lysozyme fut découvert fortuitement au cours de recherches faites pour un patient atteint de coryza aigu. C'est avec un grand micrococcus Gram +, disposé irrégulièrement, avec une certaine tendance à se placer en diplocoques, ou en formation tétraédrique, que toutes les expériences ont été faites.

La colonie, au maximum de développement, peut atteindre 2 mm de diamètre environ ; elle est ronde, opaque et surélevée ; elle a une couleur jaune citron, brillante ; elle présente une croissance exubérante sur tous milieux ordinaires ; sa culture s'effectue ordinairement à température ambiante, ou à l'étuve à 37°C. Ce microbe est aérobie ; il ne liquéfie pas la gélatine, ni ne coagule l'albumine.

L'auteur l'appelle *Micrococcus lysodeikticus*.

Après les études de FLEMING, la voie est ouverte pour l'étude de ce nouveau mode de protection anti-bactérienne : ALLISON et ses coll. d'abord, puis, en Allemagne, ANDERSEN, WOLFF, NAKAMURA, et d'autres encore cherchèrent à élucider les propriétés du lysozyme ; en Amérique, MEYER et ses coll. s'efforcèrent d'obtenir la substance pure, et c'est en U.R.S.S. que l'on en tira les conclusions pratiques, en essayant de l'appliquer à la clinique et à la thérapeutique des affections qui y semblent le plus favorables.

CONSTITUTION CHIMIQUE

Purifié et obtenu à l'état pur par ABRAHAM et ROBINSON (1937), ALTERTON et FAVOR l'isolent du blanc d'œuf et l'obtiennent cristallisé (1946). Actuellement, il peut être extrait industriellement.

C'est un polypeptide qui doit être rangé dans le groupe des protéines basiques et caractérisé par sa richesse en arginine. Il contient environ 16 % d'azote et 2 à 3 % de soufre.

FROMAGEOT et son équipe, à la Sorbonne, indiquent dans quel ordre sont classés les acides aminés qui entrent dans la composition du polymère lysozyme, et montrent qu'il vaut mieux dire les lysozymes, étant donné les différences existant sur le plan antigénique.

P. JOLLES, M. LEDIEU et S. ZUILLI* trouvent pour tous les lysozymes qu'ils ont étudiés jusqu'ici, un pourcentage d'azote voisin de 18 %, et ont pu fixer le poids moléculaire aux alentours de 15.000 ; ces auteurs donnent, pour le lysozyme d'œuf de poule étudié par la méthode de Moore et Stein, la composition quantitative suivante en acides aminés, exprimée en résidus par molécule :

— Gly	12	— Phe	3
— Ala	12	— Tyr	3
— Ser	12	— Try	5 — 6
— Cys	8	— Asp	22
— Met	2	— Glu	5
— Thr	8	— Lys	6
— Pro	2	— Arg	10 — 11
— Val	6	— His	1
— Leu	8	— N amidé	18
Ileu	6		
		<i>Total</i>	<i>132</i>

De toutes leurs observations sur des lysozymes de différentes provenances, les auteurs peuvent conclure que :

a) tous les lysozymes sont constitués qualitativement par les mêmes acides aminés ;

b) les lysozymes extraits d'espèces animales différentes, bien qu'ayant la même activité biologique, ont des compositions en acides aminés différentes, pour certains surtout en ce qui concerne la proline, le tryptophane, l'acide glutamique et l'arginine ;

(*) 1^{er} Symposium International du Lysozyme de Fleming, Milan, avril 1959.

c) la teneur en acides aminés basiques de tous les lysozymes étudiés est grande ;

d) si d'un même organe deux lysozymes sont extraits, ils présentent la même composition en acides aminés ; il pourrait s'agir simplement d'une différence du nombre de groupements amidés, qui expliquerait le comportement chromatographique légèrement différent ;

e) il est à noter, enfin, que les lysozymes contenus dans deux organes différents d'un même animal, œuf et poumon de poule par exemple, ne sont pas identiques.

Ses sels, bromure, chlorure, iodure, nitrate, carbonate peuvent être obtenus cristallisés.

RÉPARTITION

Le lysozyme est décelable pour ainsi dire partout :

1) Chez les mammifères et notamment chez l'homme :

a) *Normalement* : dans les larmes, le mucus nasal, la salive, les crachats, le sérum sanguin, le plasma sanguin, les leucocytes, le sperme, le liquide synovial, le cartilage, les cheveux, l'estomac, le côlon, le foie, la rate, les reins, les surrénales, le cœur, le cerveau, les muscles, les ovaires, les testicules, les ganglions lymphatiques, les glandes salivaires, les poumons.

b) *A l'état pathologique* : dans le liquide d'ascite, le liquide pleural, l'hydrocèle, le liquide de kyste ovarien, le sébum, le pus de pustule d'acné, le séro-pus d'un abcès froid de l'espace poplité, l'urine contenant de l'albumine et du pus.

c) *N'en contiennent pas* : l'urine normale, le liquide céphalo-rachidien, la sueur, l'humeur aqueuse et le cristallin.

2) Chez les animaux : dans l'œuf de poule particulièrement.

3) Dans les plantes : comme les tulipes, les soleils, les boutons d'or, les orties, les poireaux et navets.

4) Et même dans les ammonites marines.

Le lysozyme se trouve à concentration très variable :

1) Dans différents milieux : dans le blanc d'œuf, la quantité est extraordinaire : le blanc d'œuf dilué 60.000 fois et davantage, peut arriver à lyser encore certaines souches bactériennes. Le latex de certains papayers et de certains ficus sont d'autres sources abondantes.

2) Dans un même milieu : si, en général, chez un même individu, les larmes, le crachat et le sérum sanguin ont une teneur en lysozyme constante, il n'en est pas de même pour la salive, où les concentrations subissent des variations considérables, et sa concentration n'atteint jamais celle des larmes.

Des échantillons salivaires sont prélevés à la pipette Pasteur stérile, après balayage lingual de la bouche et des replis muqueux, et accumulation de la salive pendant cinq minutes par le sujet.

Au préalable, le sujet a été l'objet d'une observation clinique.

Chaque échantillon salivaire donne lieu :

- 1° A une mesure de pH.
- 2° A un dosage des substances lytique par la technique de SMOLLEIS et HARTSELL.

Résultats :

Il n'y a pas de relations entre le pH salivaire et la concentration en substances lytiques.

- La concentration en substances lytiques, en fonction du temps, n'est pas constante pour un même sujet, et est variable d'un sujet à l'autre, avec des écarts sensibles.
- Pour des sujets pris dans les mêmes conditions, la concentration en substances lytiques de la salive tend à diminuer au cours de la matinée, avant le repas de midi, pour s'élever et atteindre des valeurs supérieures à la valeur initiale, une heure après ce repas.
- Il semble que l'état bucco-dentaire — et particulièrement les caries en activité — agisse sur la concentration en substances lytiques de la salive :
 - a) à un bon état bucco-dentaire répond une faible concentration des substances lytiques salivaires ;
 - b) à un mauvais état bucco-dentaire répond une augmentation de la concentration en substances lytiques salivaires.
- Les salives droite et gauche présentent une légère différence, plus ou moins sensible, de la concentration en substances lytiques.
- L'ingestion de substances acides, par exemple de jus de citron, en abaissant le pH au-dessous de 6, provoque une augmentation de la concentration en substances lytiques de la salive.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

La substance pure sous forme de chlorhydrate de lysozyme se présente sous l'aspect d'une poudre blanchâtre, inodore et légèrement salée.

• SOLUBILITÉ

Le lysozyme est soluble dans l'eau ou dans une solution saline faible.

Il est insoluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, le toluol, le xylol et l'acétone qui le flocculent.

• THERMOSTABILITÉ

Thermostable en milieu acide, il peut supporter une température de 100°C pendant quinze minutes, sans dommage, au pH optimum de 4,5.

Il est très labile en milieu alcalin.

• CONSERVATION

Il se conserve très facilement pendant deux ans, sans perdre ses propriétés. Il supporte très bien la sécheresse et l'exposition à la lumière. Il peut être facilement mélangé au maltose, au saccharose.

• PRÉCIPITATION

Il précipite en solution albumineuse par les agents précipitants habituels des albumines, tels que alcool, acétone ou acide picrique : il précipite alors en même temps que les protéines.

• FILTRATION

S'il ne traverse pas la membrane de collodion ni de parchemin, il est cependant filtrable, mais le filtre doit être d'abord saturé par une certaine quantité de lysozyme qui est retenue par adsorption, alors le pouvoir lytique réapparaît. Même résultat avec le filtre de papier ou de coton ; l'expérience a été faite avec du blanc d'œuf. Il passe sans difficulté le filtre de porcelaine et la bougie de Chamberland n° 5. Il ne serait pas dialysable.

• DIFFUSION

Il diffuse à travers la gélose.

- POINT ISOÉLECTRIQUE

Son point isoélectrique se situe aux environs de pH 10,5-11,0.

- MISE EN ÉVIDENCE ET DOSAGES UTILISÉS PAR ÉVALUATION BIOLOGIQUE D'APRÈS LA TECHNIQUE DE SMOLELIS ET HARTSELL

Le lysozyme a la propriété de lyser très rapidement et très complètement une culture de *Micrococcus lysodeikticus* ; le dosage est basé sur cette propriété en solution tamponnée à pH 6,2, et consiste à mesurer la quantité de produit nécessaire pour lyser totalement en vingt minutes, à 20°C, une culture en suspension ayant une densité optique de 1,0.

Cette méthode est plus précise que la méthode des antibiogrammes de diffusion en gélose.

LE LYSOZYME DU BLANC D'ŒUF

L'extraction à partir du blanc d'œuf est actuellement la seule source industrielle de lysozyme d'utilité pratique en quantité et en qualité ; il est le mieux connu et le plus étudié.

Le pouvoir lytique du blanc d'œuf est très élevé ; il est encore décelable pour une concentration de 1/50.000.000^e, donc supérieur à n'importe quel antiseptique connu. Même à l'état sec, il présente encore une concentration élevée en lysozyme.

L'alimentation apporte du lysozyme, ainsi : un blanc d'œuf cru contient environ 8 à 10 mg de lysozyme. Tout n'est pas détruit au cours de la cuisson des aliments contenant de l'œuf, et sous sa forme la plus simple, on peut dire qu'un œuf cuit dans des conditions normales, a encore 50 % de son lysozyme actif.

La digestion peptique n'a aucun effet sur le lysozyme du blanc d'œuf.

- CONSERVATION

ANDERSEN conserve du blanc d'œuf trois mois. Il était parfaitement stérile, contenu dans un récipient fermé, à température du laboratoire ; le titrage du lysozyme montra une concentration absolument normale ; ce qui est confirmé par SURANEJI.

D'autres auteurs estiment qu'au delà d'une semaine, l'effet lytique paraît quelque peu diminué, surtout en solution salée.

Le blanc d'œuf stabilisé au moment du séchage, à une température moyenne de 85°C, n'est pas fermentescible, et sa teneur en lysozyme actif reste importante.

• DESSICCATION

Le lysozyme est présent dans du blanc d'œuf de commerce vieux de plusieurs mois, et même plusieurs années.

Du blanc d'œuf conservé deux ans après dessiccation donna 1/1.000.000^e; à l'état frais, il était de 1/100.000^e.

• EFFET DE LA LUMIÈRE

Du blanc d'œuf exposé à la lumière solaire pendant six heures, a conservé pleinement son pouvoir lytique; les résultats furent identiques avec vingt-quatre heures (WENDLING).

• RÉSISTANCE AU FROID

Le lysozyme résiste aux basses températures de lyophilisation.

TOXICITÉ

La toxicité du lysozyme est extrêmement faible. En effet, le chien, le cobaye et le lapin en tolèrent, sans aucun inconvénient, 150 mg/kg par voie intraveineuse, 200 mg par voie intra-musculaire. Le rat et la taupe supportent 1 g/kg, toujours sans troubles.

L'injection intra-veineuse de 90 mg/kg n'amène aucune modification de la pression artérielle, ni de la respiration.

La toxicité chronique est également très basse, puisque l'administration par voie péritonéale de 100 mg/kg chez le cobaye et le lapin, et de 300 mg/kg chez la taupe, pendant vingt jours, n'a permis l'observation d'aucun phénomène toxique.

Les essais pratiqués sur des organes isolés confirment leur bonne tolérance vis-à-vis du lysozyme. Celui-ci n'exerce aucun effet appréciable sur l'intestin isolé de cobaye ou de lapin. Il ne modifie pas la stimulation par l'histamine, l'acétylcholine, l'adrénaline ou le chlorure de baryum.

Sur le cœur isolé de la grenouille, on ne note aucune activité, même à la concentration de 1 %. Sur le cœur isolé de lapin, perfusé avec une solution de lysozyme à 1/2.000^e, on ne constate aucune modification du tonus des coronaires.

L'intérêt de l'enzyme de FLEMING est d'autant plus grand qu'il s'agit d'un produit dépourvu de toxicité, non susceptible de provoquer des chocs, même en injections répétées et distantes dans le temps, quelle que soit la voie d'introduction.

ACTIONS BACTÉRIOLOGIQUES

Si l'on met en contact une solution de lysozyme avec une espèce bactérienne, trois éventualités se présentent (DELAUNAY) :

1° La lyse est totale et presque toujours rapide. Le contenu du tube opacifié par la suspension microbienne s'éclaircit en quelques minutes, ou une demi-heure au maximum. Ce phénomène se produit surtout avec de petites quantités d'enzyme et est rare ; il est réservé aux sarcines, comme le *Micrococcus lysodeikticus*, et pour des espèces du genre bacillus, comme le *Bacillus subtilis* ; cela, du moins, quand on opère dans les conditions les plus simples, car, au cours de ces dernières années, on s'est aperçu que le nombre des germes capables d'être attaqués par l'enzyme, pouvait être largement augmenté au moyen de certains artifices de technique, par exemple en alcalinisant le milieu liquide où s'est déroulée la réaction, ou en utilisant des microbes d'abord éprouvés par la chaleur ou un traitement par l'acétone.

Le phénomène, perçu à l'ultra-microscope, montre que les micro-organismes lysés par le lysozyme perdent rapidement la netteté de leurs contours, gonflent et disparaissent en libérant de petits grains ressemblant à ceux des leucocytes polynucléaires.

2° L'agglutination des germes se produit avec de grosses quantités d'enzyme, et remplace souvent la lyse ; dans ce cas, quels que soient les artifices mis en œuvre, on n'arrive pas à déterminer une véritable lyse microbienne : l'agglutination des germes mis en contact du lysozyme est souvent massive.

3° Quelquefois, il n'y a pas de lyse, pas toujours d'agglutination, mais les bactéries changent d'aspect, il y a formation de protoplastes (WEIBULL). Si, par exemple, elles avaient une forme en bâtonnet, au contact du lysozyme elles prennent la forme sphérique. Ceci est vrai quand on opère dans un milieu dont la pression osmotique est élevée, par exemple, en présence de saccharose.

Le mode d'action est double : le lysozyme agit comme polypeptide basique et comme enzyme. Ces trois ordres de phénomènes traduisent une modification de la paroi bactérienne. Entrent notamment dans sa composition des protides, des lipides et des glucides ; mais tous ces corps ne se trouvent pas librement disposés à la surface de la cellule, ils se trouvent enchâssés dans une sorte de charpente formée par un mucopeptide.

Dans le cas de l'agglutination, selon toutes probabilités, intervient une action spécifique de l'enzyme qui agirait en tant que polypeptide, et va se combiner avec le mucopeptide se trouvant à la surface de la bactérie, dans sa paroi.

Comme polypeptide basique, le lysozyme possède les propriétés des corps de constitution analogue : polypeptides naturels ou synthétiques, protamines et histone. Il a le pouvoir de se combiner avec de nombreuses substances, tels que les acides nucléiques, ovalbumines, polysaccharides ou mucopeptides. Dans ces cas, il s'agit d'une combinaison par fixation banale, de nature électrostatique. En conséquence, la charge électrique de la surface bactérienne se trouve neutralisée, la suspension cesse d'être homogène : les microbes finissent par mourir. Tout porte à croire qu'il en est de même *in vivo*.

Dans le cas de la lyse, l'action se fait par l'enzyme qui va se fixer sur les mucopeptides : mais ce n'est plus une combinaison banale, mais une altération, une solubilisation du mucopeptide qui se trouve dans la paroi bactérienne, en libérant des produits de dégradation que l'on retrouve dans le milieu, en particulier de l'acétylglucosamine et de l'acide muramique. Autrement dit, l'action se déroule en deux temps : d'abord fixation du polypeptide dans le mucopeptide de la paroi bactérienne ; puis solubilisation du produit.

Le substrat spécifique du lysozyme étant le mucopeptide, l'action sera d'autant plus prononcée et spectaculaire que la quantité de mucopeptide présente dans la paroi bactérienne sera élevée. C'est précisément ce qui se passe avec le *Micrococcus lysodeikticus*, la quantité de mucopeptide représentant près de 90 % de la masse totale de la paroi : chaque fois que ce taux sera aussi élevé, on obtiendra une action aussi claire, une lyse bactérienne aussi nette.

Mais le phénomène précédent ne se produit pas très souvent, parce que, dans la majorité des cas, la quantité de mucopeptide n'est pas suffisamment importante, et surtout parce que, à ce mucopeptide, se joignent des substances, protéides, glucides, lipides, qui empêchent plus ou moins l'enzyme d'exercer son action. Le mucopeptide est atteint, mais l'action est retardée par les substances jointes : la lyse n'est pas totale et c'est dans ces conditions que l'on arrive à la forme de protoplastes. Ceux-ci feront leur apparition quand la paroi bactérienne aura été détruite, mais de façon ménagée et parfois incomplète, l'action enzymatique du lysozyme sur le substrat, le mucopeptide, étant plus ou moins entravée par les substances précédentes. Si celles-ci ont été altérées avant l'intervention de l'enzyme, cette action est beaucoup plus poussée.

CONDITIONS DE L'ACTION DU LYSOZYME

L'action lytique est extrêmement rapide : par exemple, à 45°, une dilution de lysozyme à 1/100° éclaircit en trente secondes une suspension de 1 cm³ de *Micrococcus lysodeikticus* ; placée dans les mêmes conditions, une dilution de blanc d'œuf au 1/5° éclaircit une suspension de 1 cm³ en dix secondes.

In vitro, le lysozyme a une action optimale dans des milieux dont la concentration en NaCl est inférieure à 1 % et pour un pH de 6,2. L'action du lysozyme est inhibée dans des solutions où la concentration en NaCl est égale ou supérieure à 5 %, et dont le pH est inférieur à 5,7 ou supérieur à 7,4.

D'après GRULA et HARTSELL, la purification d'une substance ne semble une mesure valable de l'action du lysozyme que si l'on crée des conditions de milieu permettant une solubilité maxima se rapportant au pH. A pH bas avec le *Micrococcus lysodeikticus*, peu ou pas de purification n'est observée ; cependant les cellules montrent l'effet Nakamura. L'observation au microscope électronique de cellules exposées au lysozyme montra qu'à des pH bas, une action enzymatique considérable s'était produite.

La solubilisation du cytoplasme par l'alcali (effet Nakamura) se révéla possible seulement après que la cloison cellulaire eût été enlevée ou dégradée par le lysozyme pour permettre un contact suffisant entre l'alcali et le cytoplasme. La saturation des parois de cellules, ou de cellules intactes par le bleu d'Alcan, empêche le lysozyme d'agir.

L'état de Gram positif à la coloration ne dépend pas chimiquement de la présence du substrat du lysozyme dans la paroi cellulaire de *Micrococcus lysodeikticus* ; ces cellules de Gram positif deviennent Gram négatif après l'enlèvement du substrat à cause du changement qui s'est produit dans la perméabilité de la paroi de la cellule.

La température influence la rapidité de lyse : en effet, elle se produit lentement en milieu glacé. Ainsi, il n'y avait pas de lyse visible avec 1/1.000° de larmes en deux heures, tandis qu'à 37°C, une dilution de 1/13.000° du même échantillon de larmes indiquait une lyse complète dans ce même temps. Le taux de lyse augmente avec la température jusqu'à environ 60°. Après vingt-quatre heures, cependant, le titre est à peu près le même, que la température soit celle de la pièce, 37° ou 50°C.

Un milieu hydrocarboné, même à de fortes concentrations, n'inhibe pas l'action du lysozyme.

La dégradation des albumines par la pepsine active l'action du lysozyme.

La glycine active et augmente la lyse ; il est intéressant de souligner ce fait, en raison d'une concentration relativement élevée de cet acide aminé dans la salive.

Le chloroforme, l'éther, le toluène, le xylol, l'alcool et l'acétone n'ont aucune influence sur la puissance lytique du lysozyme (FLEMING et ALLISON).

Les sels de métaux lourds, comme le sulfate de cuivre, produisent une inhibition totale.

Il a été démontré que les bactéries lysées ne neutralisent pas l'agent lytique.

SPECTRE ANTI-BACTÉRIEN

Les germes aérobies, Gram + ou —, présentent le pourcentage de sensibilité le plus élevé au lysozyme.

Les germes isolés à partir du corps humain présentent une sensibilité variable, qui va de la lyse perceptible à la floculation, en passant par l'inhibition et l'action bactéricide sans lyse.

L'action lytique a été démontrée sur le streptocoque, le staphylocoque et l'entérocoque.

L'effet inhibiteur ne fait aucun doute sur les variétés de streptocoque et staphylocoque non touchés par la lyse, sur le bacille coli.

Les germes pathogènes comme le streptocoque hémolytique, le méningocoque, le bacille de Koch et le bacille typhique, sont sensibles à l'action du lysozyme.

Le lysozyme est principalement et le plus fortement actif contre les germes aérobies saprophytes.

En raison de sa puissance considérable d'action, il est peu probable qu'une transformation de bactéries saprophytes en pathogènes soit possible en présence de lysozyme.

Les recherches modernes mettent en évidence une activité appréciable du lysozyme sur toute une série de micro-organismes hautement pathogènes pour l'homme : il est possible que beaucoup de bactéries ne soient actuellement pas pathogènes pour l'homme, à cause de leur sensibilité au lysozyme¹.

Une caractéristique du lysozyme est le fait que son action lytique s'exerce indifféremment sur les bactéries mortes, comme sur les vivantes.

(1) *The Lancet*, 1941

Une liste de micro-organismes lysés par le lysozyme est donnée par MESROBEANU et NOEPPÉL :

<i>B. aertrycke</i>	
<i>V. cholérique</i>	
<i>V. paracholérique</i>	FLEMING et ALLISON
<i>B. dysenteriae Flexner</i>	
<i>B. morgani</i>	
<i>B. pyocyane</i>	
<i>B. coli</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Micrococcus lysodeikticus</i>	
<i>B. anthracis</i>	
<i>B. abortus</i>	
<i>B. pseudotuberculosis rodentium</i>	
<i>Streptococcus hemolyticus</i>	SANDOW
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	WOLFF
<i>Neisseria intracellularis</i>	MELNIK
<i>B. megatherium</i>	RETTGER et SPERRY
	WOLLMAN et WOLLMAN
	WELSHIMER et ROBINOW
	GIRFANOVA
Protozoaires	
(<i>Paramecium caudatum</i> et <i>Glaucoma scintillans</i>)	
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	CUTINELLI et LA MANNA
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	ALBANO
<i>Vibrio cholerae</i>	WHITE
<i>B. anthracis</i>	TURRO
	WOLFF
	WOLFF
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
<i>Sarcina lutea</i>	
<i>Staphylococcus muscae</i>	MEYER et HAHNEL
<i>B. subtilis</i>	
<i>B. cereus</i>	
<i>B. Proteus Zenkeri</i>	
<i>B. pullorum</i>	RETTGER et SPERRY
<i>B. fluorescens liquefaciens (Pseudomonas)</i>	
<i>B. putrificus (Clostridium)</i>	
<i>Clostridium sporogenes</i>	
<i>Clostridium tetani</i>	STONE
	WOLFF
<i>Clostridium botulinum</i>	
<i>Clostridium perfringens (welchii)</i>	MELNIK
<i>Shigella dysenteriae</i>	
<i>Streptococcus faecalis</i>	
<i>Streptococcus mastiditis</i>	A.N. SMOLELIS
<i>Streptococcus pyogenes</i>	
<i>Bacillus subtilis</i>	
<i>Alkaligenes viscosus</i>	

Micrococcus sphæroïdes
Neisseria catarrhalis
Escherichia coli
Proteus vulgaris
Pseudomonas fluorescens
Salmonella paratyphi A
Salmonella paratyphi B
Salmonella typhosa
Salmonella pullorum
Serratia kielsensis
Shigella dysenteriae

MYERHOLTZ et HARTSELL

ROLE PHYSIOLOGIQUE

Le lysozyme n'interviendrait pas seulement pour atteindre les parois bactériennes.

On estime, à l'heure actuelle, que c'est une enzyme qui doit intervenir dans les phénomènes métaboliques, notamment en ce qui concerne les mucopolysaccharides (Karl MEYER).

Le lysozyme présente des rapports avec l'héparine (mucopolysaccharide), corps de charge électrique opposée au polypeptide car ils peuvent se combiner, l'un se fixant sur l'autre : l'héparine fixée au lysozyme n'exerce plus son action coagulante. On pense donc que le lysozyme devrait jouer aussi un rôle dans les processus de coagulation, à l'inverse de l'héparine, et favoriserait la coagulation.

On admet aujourd'hui que, dans les articulations et la salive, c'est un lubrifiant très important.

On observe des variations du taux de lysozyme dans des états pathologiques ; ainsi, le catarrhe nasal s'accompagne d'une chute de lysozyme dans la muqueuse nasale ; le lysozyme chute dans les larmes, en cas de carence de vitamine A ; il en est de même dans le mucus gastrique, après ingestion d'histamine ou d'A.C.T.H.

Le taux de lysozyme est augmenté dans la muqueuse vaginale au cours de la grossesse, ou dans les cas de sujets déprimés : l'augmentation est énorme dans le tractus digestif en cas d'ulcère gastrique.

Récemment, on a découvert au lysozyme employé à des doses journalières de 300 et 500 mg par jour, une action antalgique très marquée chez des patients atteints de lésions cancéreuses (*II^e Symposium International sur le Lysozyme*). Il est encore efficace dans le zona et l'herpès.

M. Lusi observa une heureuse influence exercée par le lysozyme sur la rapidité de guérison des blessures et de toutes les solutions de continuité de la peau, des muqueuses et des divers tissus.

VARIATIONS DU Ph AU COURS DE LA JOURNÉE

Ph pris toutes les 1/2 h.

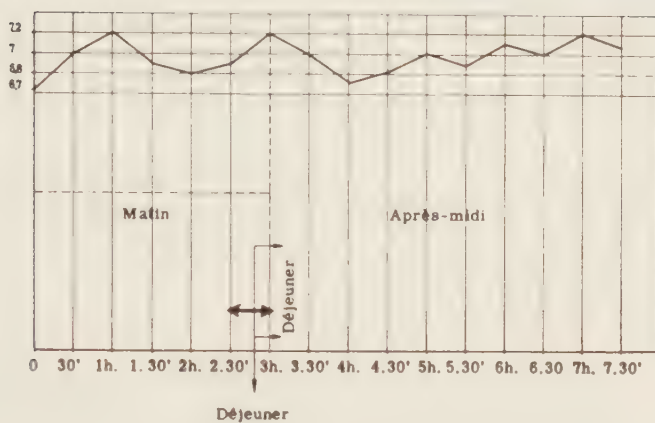
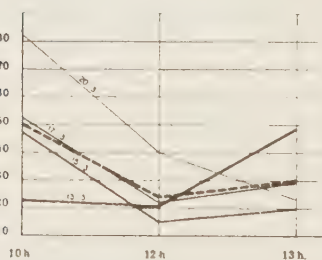


TABLEAU RECAPITULATIF

Noms	Age	Etat général	Hygiène	Dents extraïtes	Caries en activité	Dents obturées	Etat des gencives	Dosage de la concentration des substances lytiques de la salive					
								A Jeun		Avant le repas de midi		1 heure après le repas de midi	
								p H	Subt. lyt.	p H	Subt. lyt.	p. H.	Subt. lyt.
Melle M	18	Bon	Bonne	0	0	0	Saines	7,6	7	7,5	5	7,6	11
Melle SA	19	Bon	Bonne	0	0	5	Saines	7,6	28	7,2	24	7,8	46
Melle SI	30	Bon	Moyenne	10	6	0	Gingivite	7,3	51	7,1	57	7	70
Mme LP	34	Bon	Bonne	15	2	4	Saines	7,1	50	7	39	7,1	52
Mme SE	34	Bon	Bonne	4	1	7	Saines	7	51	6,9	24	6,9	30
Mme H	39	Bon	Moyenne	2	3	9	Gingivite	6,9	48	7,2	29	6,9	60
Mr D	55	A Bon	Mauvaise	17	11	0	Parodontite	7,2	121	6,7	135	6,6	176

Les concentrations en substances lytiques sont exprimées en γ par ml de salive

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LYTIQUES
DE LA SALIVE EN FONCTION DU TEMPS

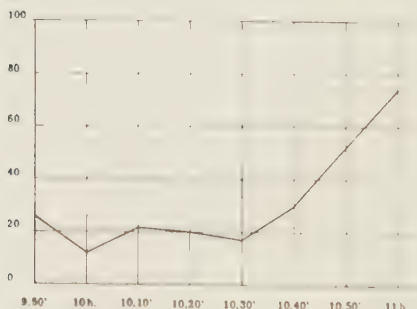
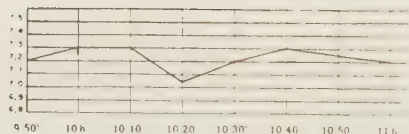


Mme SE N° 33	A jeun		Avant repas 12 h.		1 h. après repas	
	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.
13 3.61	7,1	23	7,1	21	6,7	48
15 3.61	7,0	48	6,8	15	6,9	20
17 3.61	7,2	53	7,1	22	6,9	29
20 3.61	7,0	83	6,9	40	7,0	23
Moyennes	7,0	51	6,9	24	6,9	30

La concentration en substances lytiques est exprimée en γ par ml de salive

Observation n° 33 : Mme Se...

VARIATIONS DU pH ET DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LYTIQUES
EN FONCTION DU TEMPS



DOSAGES SUCCESSIFS

Mme SE N° 33	pH	Subst. lytique
1er prélèvement 9 h. 50	7,20	26
2ème prélèvement 10 h	7,30	12
3ème prélèvement 10 h. 10	7,30	22
4ème prélèvement 10 h. 20	7,03	20
5ème prélèvement 10 h. 30	7,20	17
6ème prélèvement 10 h. 40	7,30	30
7ème prélèvement 11 h.	7,20	75
8ème prélèvement 11 h	7,10	99

Les concentrations en substances lytiques sont exprimées en γ par ml de salive

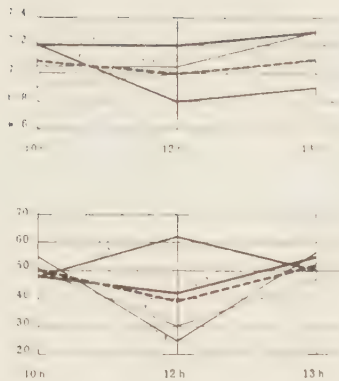
Un contrôle à 16 h
donne 99 γ /ml

Observation n° 33 : Mme Se...

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LYTQUES
DE LA SALIVE EN FONCTION DU TEMPS

Obs. n° 34

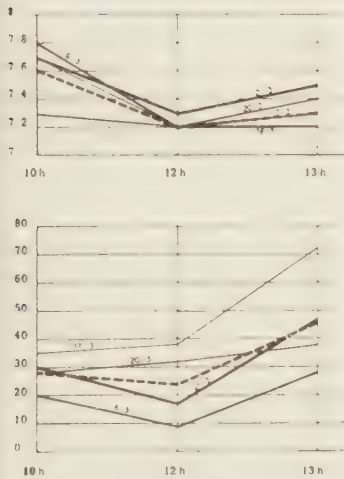
Mme L...



Mme L. N 34	A jeun		Avant repas 12 h.		1 h. après repas	
	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.
10 3 61	7,2	48	7,1	42	7,2	55
14 3 61	7,2	48	7,0	30	7,1	47
18 3 61	7,2	48	6,8	62	6,9	50
17 3 61	7,05	55	7,05	25	7,3	56
Moyennes	7,04	50	7,0	39	7,1	52

La concentration en substances lytiques est exprimée en γ par ml de salive

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LYTQUES
DE LA SALIVE EN FONCTION DU TEMPS



Mme SA N 35	A jeun		Avant repas 12 h.		1 h. après repas	
	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.
16 3 61	7,8	20	7,2	9	7,2	28
17 3 61	7,7	35	7,2	38	7,3	72
20 3 61	7,3	28	7,2	32	7,4	38
21 3 61	7,7	30	7,3	17	7,5	47
Moyennes	7,6	28	7,2	24	7,3	46

La concentration en substances lytiques est exprimée en γ par ml de salive

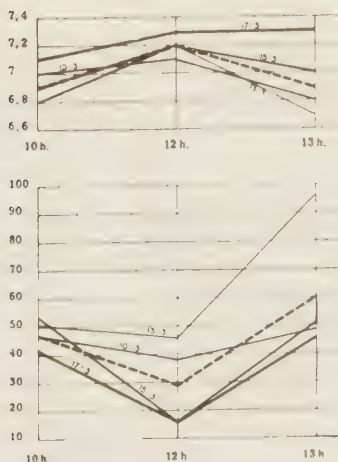
Obs. n° 35

Mme Sa...

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LYTQUES
DE LA SALIVE EN FONCTION DU TEMPS

Obs. n° 36

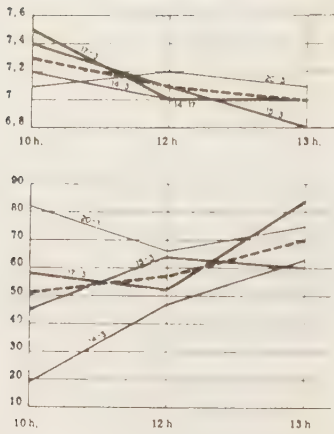
Mme H...



Mme H N 36	A jeun		Avant repas 12 h.		1 h. après repas	
	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.
10 3 61	7,0	47	7,1	38	6,8	49
13 3 61	6,9	51	7,2	46	6,7	97
15 3 61	6,8	54	7,2	16	7,1	51
17 3 61	7,1	42	7,0	16	7,0	46
Moyennes	6,94	48	7,2	29	6,9	60

La concentration en substances lytiques est exprimée en γ par ml de salive

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LYTQUES
DE LA SALIVE EN FONCTION DU TEMPS



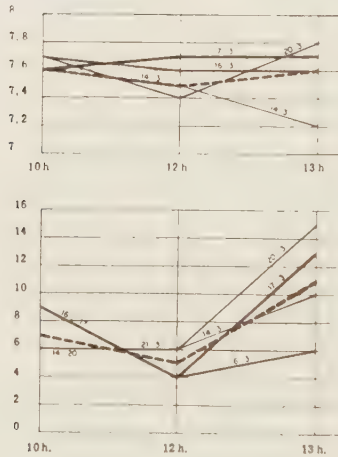
Mme SI N° 37	A jeun		Avant repas 12 h.		1 h. après repas	
	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.
14.3.61	7,2	19	7,0	47	7,0	63
15.3.61	7,4	45	7,1	64	6,8	60
17.3.61	7,5	58	7,0	52	7,0	84
20.3.61	7,1	82	7,2	66	7,1	75
Moyennes	7,3	51	7,1	57	7,0	70

La concentration en substances lytiques est exprimée en % par ml de salive.

Obs. n° 37

Mme Si...

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LYTQUES
DE LA SALIVE EN FONCTION DU TEMPS



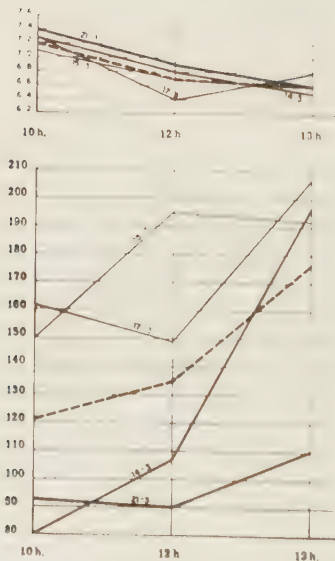
Mlle M N° 38	A jeun		Avant repas 12 h.		1 h. après repas	
	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.
14.3.61	7,6	6	7,5	6	7,2	10
16.3.61	7,7	9	7,6	4	7,6	8
17.3.61	7,6	9	7,7	4	7,7	13
20.3.61	7,7	6	7,4	6	7,5	15
Moyennes	7,6	7	7,5	5	7,6	11

La concentration en substances lytiques est exprimée en % par ml de salive.

Obs. n° 38

Mlle M...

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LYTQUES
DE LA SALIVE EN FONCTION DU TEMPS



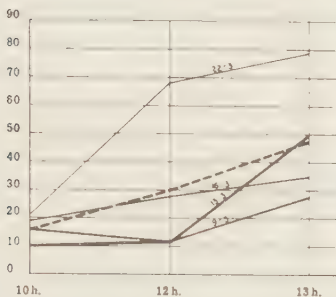
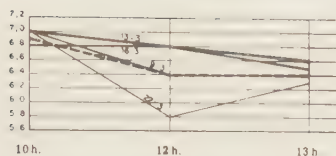
Mr D N° 39	A jeun		Avant repas 12 h.		1 h. après repas	
	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.	pH	Subst. lyt.
14.3.61	7,3	80	6,4	107	6,5	197
15.3.61	7,1	150	6,5	195	6,6	192
17.3.61	7	182	6,7	149	6,8	207
21.3.61	7,4	93	6,3	90	6,6	110
Moyennes	7,2	121	6,7	135	6,6	176

La concentration en substances lytiques est exprimée en % par ml de salive.

Obs. n° 39

M. D...

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LITIQUES
DE LA SALIVE EN FONCTION DU TEMPS

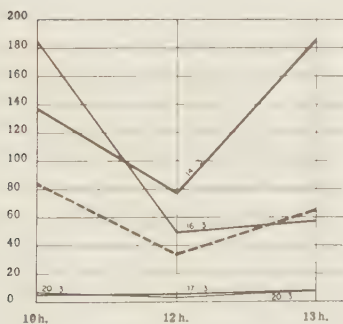
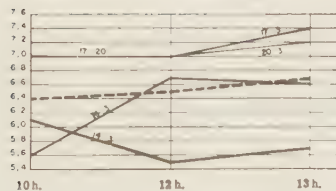


Mr G N° 40	A jeun		Avant repas 12 h.		1 h. après repas	
	pH	Subs. lyt.	pH	Subs. lyt.	pH	Subs. lyt.
9.3.61	6,8	16	6,8	12	6,5	28
13.3.61	7,0	10	6,8	12	6,6	50
16.3.61	7,0	19	6,4	28	6,4	35
22.3.61	7,0	21	5,8	88	6,3	79
Moyennes	6,9	16	6,4	30	6,4	48

La concentration en substances lytiques est exprimée en γ par ml de salive

Observation n° 40 : M. G...

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LITIQUES
DE LA SALIVE EN FONCTION DU TEMPS



Mme G N° 41	A jeun		Avant repas 12 h.		1 h. après repas	
	pH	Subs. lyt.	pH	Subs. lyt.	pH	Subs. lyt.
14.3.61	6,1	137	5,5	78	5,7	186
16.3.61	5,6	185	6,7	50	6,6	58
17.3.61	7,0	6	7,0	5	7,4	8
20.3.61	7,0	7	7,0	4	7,2	8
Moyenne	6,4	84	6,5	34	6,7	65

La concentration en substances lytiques est exprimée en γ par ml de salive.

Observation n° 41 : Mme G...

CHAPITRE IV

EXPÉRIMENTATION SUR L'ACTION DU LYSOZYME ADDITIONNÉ AU SUCRE DANS LA SALIVE

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL *

Les échantillons salivaires sont prélevés sur des sujets en bonne santé, choisis parmi les enfants, les adolescents et les adultes des deux sexes.

Les échantillons salivaires sont prélevés à la pipette Pasteur stérile, après balayage lingual de la bouche et de ses replis muqueux, et accumulation de la salive pendant cinq minutes.

Il est possible, dans ces conditions, de recueillir 3 ml de salive par échantillon.

- 1° Les échantillons salivaires sont immédiatement portés dans la cupule de la micro-électrode d'un pHmètre.
- 2° On pratique une recherche de l'acidité développée à l'aide d'un dosage alcalimétrique, en utilisant l'acide lactique et un indicateur coloré (rouge de chlorophénol) à virage pH 5, pour 2 cm³ de solution ; un dosage acidimétrique par NaOH, N/100 en présence de rouge de phénol.
- 3° On pratique un ensemencement sur gélose ordinaire (PASTEUR) en boîtes de Pétri de 10 cm de diamètre, après dilution de l'échantillon salivaire au 1/10.000^e pour numération des colonies microbiennes.
- 4° La mise en évidence de l'existence de traces de sucre est faite à l'aide de la réaction de Molish ; l'intensité de la réaction est évaluée de 0 à + + + +.
- 5° Le dosage du lysozyme dans la salive et dans le sucre est fait selon la technique de SMOLELIS et HARTSELL.

(*) DUBOIS-PRÉVOST, Laboratoire de Recherches Stomatologiques à l'Hôpital Bichat.

6° Des contrôles complémentaires sont effectués selon la technique des antibiogrammes sur boîtes de Pétri.

7° Les résultats sont exprimés par une représentation graphique sur feuilles de papier millimétré, dont le verso est réservé à une observation clinique.

— Le premier prélèvement, ou prélèvement témoin, est pratiqué après accumulation de salive dans la bouche du donneur pendant une durée de cinq minutes.

L'ingestion de 5 grammes de sucre se fait au bout des vingt-cinq minutes qui suivent le premier prélèvement ; le sucre est conservé cinq minutes dans la bouche et ce n'est que lorsqu'il est fortement mélangé de salive qu'il est dégluti.

— Le deuxième prélèvement se fait cinq minutes après la déglutition du mélange sucre - salive.

— Le troisième prélèvement se fait trente minutes après le deuxième.

— Le quatrième prélèvement se fait trente minutes après le troisième.

Les expériences ont été faites avec du sucre, puis avec du sucre lysozymé à vingt-quatre heures d'intervalle, pour chacun des sujets.

RÉSULTATS OBTENUS CONCERNANT 66 OBSERVATIONS

1. MESURE DU pH DE LA SALIVE DANS LES ÉCHANTILLONS

Le premier prélèvement salivaire, ou échantillon témoin, présente un pH variable compris entre 5,5 et 7,4 avec une fréquence moyenne de 6,8 :

- il est compris entre 7,4 et 7,1 dans 21 % des cas ;
- il est égal à 7 dans 19,8 % des cas ;
- il est compris entre 6,9 et 6,5 dans 38 % des cas ;
- il est compris entre 6,4 et 6 dans 16,7 % des cas ;
- il est compris entre 5,9 et 5,5 dans 4,5 % des cas.

Trois prélèvements faits toutes les dix minutes perturbent l'équilibre chimique du milieu salivaire, en faisant baisser le pH avant l'ingestion de sucre. L'équilibre tend à se faire au troisième prélèvement, avec une légère remontée dans certains cas.

D'autre part, des prélèvements trop rapprochés ne laissent pas à la flore buccale le temps nécessaire pour dégrader le sucre et pour se renouveler numériquement.

Néanmoins, l'expérience poursuivie seulement une demi-heure, donne des résultats valables :

— Le pH salivaire est généralement le plus bas dans les échantillons des deuxième et troisième prélèvements, c'est-à-dire à la dixième et vingtième minute.

— Le pH salivaire est proche du seuil critique, c'est-à-dire naturellement agressif pour l'émail des dents, dans 4,5 % des cas.

A vingt-quatre heures d'intervalle, pour un sujet pris dans les mêmes conditions, le pH salivaire est rarement le même, ainsi que le taux de l'acidité développée dans la salive témoin.

Dans les échantillons successifs, le pH salivaire est généralement le plus bas dans les deuxième et troisième prélèvements, par rapport au pH témoin :

Le deuxième prélèvement salivaire, prélevé cinq minutes après la déglutition du mélange sucre - salive, montre, pour 50 % des cas étudiés, une légère élévation transitoire de la valeur du pH, par rapport au pH initial ou témoin, et a baissé de 0,2 dans 40,7 % des cas.

Le troisième prélèvement salivaire, pratiqué trente minutes après la déglutition du mélange sucre - salive, montre que le pH atteint son point le plus bas dans 70 % des cas étudiés ; il a baissé de 0,5 dans 37 % des cas.

La présence de sucre dans la salive active les métabolismes microbiens, et la dégradation du sucre est accompagnée d'une diminution progressive de la valeur du pH salivaire, en rapport avec une libération d'acides, comme le montre le dosage alcalimétrique.

Il a été constaté que le pH peut atteindre des valeurs de 3,31, 3,88 et 3,50, dépassant donc parfois notablement le pH critique de solubilisation de l'émail dentaire situé à 5,5 ou 5,8 par STEPHAN et P. CARTIER. Les hydroxyapatites constituant la matière inorganique de la dent peuvent être dissous seulement par les acides ; et, selon la théorie de MILLER, toute cause capable de faire baisser le pH buccal au-dessous de ces valeurs est dangereuse pour les dents, créant une prédisposition à la carie, ou une aggravation de celles existantes, par solubilisation progressive des éléments minéraux constitutionnels des dents.

Le quatrième et dernier prélèvement salivaire pratiqué trente minutes après le troisième, montre que le pH tend à équilibrer le pH initial, l'acidité développée diminue. La libération d'acide a cessé ; le pouvoir tampon agit.

2. NUMÉRATION DES COLONIES MICROBIENNES

On constate qu'elle varie peu, en plus ou en moins, relativement au chiffre initial dans les deuxième et troisième prélèvements. On observe parfois une chute sensible du nombre des germes par action mécanique de la chasse salivaire et de la déglutition ; la moyenne générale serait en faveur de l'élévation du nombre des colonies, après ingestion de sucre. Puis, le nombre des colonies tend vers la normale pour atteindre la valeur initiale ou témoin.

3. CONCENTRATION DU SUCRE

Parallèlement, la concentration du sucre diminue progressivement dans la salive, le sucre persiste à l'état de traces pendant environ quarante-cinq minutes.

Plus le sucre sera rapidement dissous dans la salive, moins longtemps il persistera dans la bouche au contact des dents, et l'acidogénèse sera de courte durée. C'est ainsi que le sucre en solution serait beaucoup moins cariogène qu'absorbé sous forme solide. Les reliquats sucrés, provenant de la confiserie ou de la pâtisserie, sont souvent à l'origine d'enduits dentaires difficilement dissous par la salive.

4. DOSAGE DU LYSOZYME

La concentration du lysozyme salivaire varie de traces à 200 γ par millilitre, avec une concentration moyenne de 30 à 50 γ par millilitre.

Des variations du simple au double ont été enregistrées à une heure d'intervalle ; ces variations dénotent soit une augmentation, soit au contraire une diminution de la concentration.

En comparant les dosages obtenus sur des salives de stimulation en utilisant de la gomme à mâcher, il semble que les concentrations en lysozyme enregistrées soient plus stables, peut-être du fait d'un flux salivaire entretenu et réglé dans son débit par la mastication de la gomme. Cette stabilité apparente dans les salives de stimulation n'intervient qu'après le deuxième prélèvement, il y a généralement une chute du taux du lysozyme entre le prélèvement témoin et le deuxième prélèvement, séparés par un intervalle de trente minutes.

L'ingestion de sucre provoque, dans la plupart des cas, un stimulus de la concentration en lysozyme de la salive.

ACTION DU LYSOZYME ADDITIONNÉ AU SUCRE

L'addition de lysozyme au sucre repose sur les propositions suivantes :

— dans la salive humaine, le lysozyme est l'élément essentiel de la défense immunologique naturelle, c'est-à-dire l'élément essentiel du maintien à l'état saprophyte de la flore buccale ;

— à toute cause susceptible d'exalter les métabolismes microbiens est opposé le lysozyme ;

— il y a identité d'action entre tous les lysozymes, quelle que soit leur origine ;

— les aliments végétaux à l'état naturel sont dotés de protecteurs biologiques, inhibines et pour certains de lysozyme ;

— les aliments raffinés ont perdu ces protecteurs, du fait des opérations industrielles de raffinage ;

— le sucre raffiné représente une hydrate de carbone à l'état pur, rapidement dégradé par la flore buccale dont il est l'aliment bio-énergétique préférentiel ;

— les concentrations en lysozyme de la salive sont variables, l'ingestion de sucre provoque une augmentation du taux du lysozyme, mais celle-ci est insuffisante pour freiner d'une façon sensible les métabolismes microbiens en présence de sucre ;

— en incorporant du lysozyme dans le sucre, on restitue à celui-ci un protecteur biologique analogue à ceux dont il a été privé par le raffinage ;

— le lysozyme introduit dans le sucre, à une concentration optimale définie par l'expérience, complète l'action du lysozyme salivaire : les métabolismes microbiens étant freinés dans une mesure suffisante, la dégradation du sucre dans la bouche est ralentie et partielle, et les dernières traces de sucre s'éliminent avant que les mécanismes de protéolyse-chélation et d'acidogénèse ne soient devenus agressifs pour les dents.

LE SUCRE LYSOZYME

• PRÉPARATION

Le sucre lysozymé est obtenu en mélangeant du blanc d'œuf en poudre en cours de fabrication : le blanc d'œuf stabilisé au moment du séchage à une température moyenne de 85°C n'est pas fermentescible, et sa teneur en lysozyme actif reste importante.

Il suffit d'un gramme de blanc d'œuf par kilogramme de sucre pour obtenir un sucre lysozymé à 20 γ par gramme. Les propriétés du sucre et celles du lysozyme sont retrouvées ; les qualités alimentaires du sucre lysozymé, comparées au sucre raffiné, sont intégralement conservées. Mis dans les mêmes conditions de stockage, il se conserve aussi bien ; son aspect, ses cristaux, son goût sont identiques.

• CONSERVATION

L'action du lysozyme dans le sucre lysozymé cristallisé et en sirop persiste dans le temps à température ordinaire.

• THERMOSTABILITÉ

La résistance à la chaleur de l'action du lysozyme est différente selon que le sucre est cristallisé ou en sirop.

Cinq grammes de sucre cristallisé lysozymé à 15 γ par gramme peuvent être soumis, sans variation du pouvoir lytique, à des chaleurs sèches à des températures croissantes tous les 10°C de 60 à 120°C, pendant des temps de deux, cinq, sept et dix minutes ; le dosage du lysozyme est effectué selon la technique biologique de SMOLELIS et HARTSELL, sur un même poids de chaque échantillon dilué. Le titre des sucres en lysozyme ne varie pas par rapport au témoin, même dans les derniers échantillons ; ce sucre est thermostable jusqu'à des températures s'élevant progressivement jusqu'à 120°C.

Le pouvoir lytique est conservé à 95 % par rapport au témoin, dans un sucre lysozymé à l'aide de poudre d'œuf, soumis à une température sèche de 80°C prolongée pendant deux heures.

En milieu aqueux, sous forme de sirop, le sucre lysozymé garde toute son activité jusqu'à des températures comprises entre 65 et 70°C ; au-dessus de cette température, l'activité diminue progressivement pour ne plus être que de 13 % par rapport au témoin, entre 90 et 100°C.

• TOXICITÉ

Le sucre lysozymé est dépourvu de toxicité, et reste un aliment, puisque le principe de son action est basé sur l'introduction dans le sucre, de blanc d'œuf purifié et stabilisé en quantité infinitésimale. Si on suppose une consommation de sucre de 50 à 100 grammes par jours pour l'enfant ou l'adulte, on peut fixer l'apport en lysozyme entre 500 et 1.000 γ , apport négligeable relativement à celui de l'alimentation.

EXPERIMENTATION

• EXPÉRIMENTATION « IN VITRO »

Des essais de culture de *Micrococcus lysodeikticus* sur gélose ont été faits dans les conditions suivantes : dans les cupules creusées dans la gélose, ont été déposées des dilutions de poudre de blanc d'œuf dans du sérum physiologique, et des solutions étalons de chlorhydrate de lysozyme ; d'autre part, des cultures autour de sucre lysozymé au blanc d'œuf, de sucre auquel on a ajouté du chlorhydrate de lysozyme à même concentration, et de sucre normal ou témoin, ont été comparées.

Les mêmes essais ont été faits avec la flore salivaire totale. Après vingt-quatre heures, on constate que les zones d'inhibition de culture sont de même importance pour des quantités égales de lysozyme quelle que soit sa forme, et sont d'autant plus étendues que le taux de concentration de lysozyme est élevé.

Le sucre lysozymé présente une action identique à celle du lysozyme employé seul en solution de même concentration.

L'action du lysozyme testée sur la flore buccale prise dans son ensemble, et non sur des germes séparés, se rapproche plus des conditions dans lesquelles vit la flore microbienne buccale.

• RÉSULTATS DES OBSERVATIONS

L'expérimentation, dans les mêmes conditions que précédemment avec le sucre non lysozymé et avec les mêmes sujets, donne les résultats suivants :

L'ingestion de sucre lysozymé provoque parfois une élévation transitoire et de courte durée de la valeur du pH salivaire ; elle provoque l'apparition ou l'augmentation du taux du lysozyme dans la salive ; ce taux est plus élevé qu'avec le sucre ordinaire, en raison de l'apport du lysozyme du blanc d'œuf.

La présence du blanc d'œuf dans le sucre libère dans la salive du lysozyme qui freine les métabolismes microbiens ; la dégradation du sucre est arrêtée par le fait que la plupart des germes sont frappés de lyse ou d'inhibition ; le pH reste alors relativement stable et proche de la valeur initiale ou témoin, et la production d'acides est réduite ; le contrôle est fait par titrage alcalimétrique, par la méthode de Dreizen, ou titrage acidimétrique. La chute du nombre des microbes est nettement plus marquée avec le sucre lysozymé qu'avec le sucre ordinaire.

Le sucre lysozymé dont le taux de lysozyme est compris entre 8 γ et 20 γ par gramme, présente avec le sucre raffiné la différence suivante : la flore microbienne est neutralisée, le sucre n'est que faiblement dégradé dans le milieu buccal, l'acidogénèse est faible. Avec des sucres mêlés de poudre de blanc d'œuf séché à des températures inférieures ou égales à 80 C. la libération des acides qui attaquent l'émail serait réduite dans la proportion de 50 %.

DUREE D'ACTION

Le lysozyme agit sur les microbes pendant un temps égal à la solubilisation du sucre. L'effet est entretenu pendant un temps assez court après la déglutition des dernières traces de salive sucrée : des ensemencements de salive montrent que le premier prélèvement fait cinq minutes après l'absorption de sucre lysozymé donne une culture de densité sensiblement la même que le témoin ; dix minutes après, les germes ne paraissent presque plus ; la densité des germes reprend dix minutes plus tard, pour être presque identique au premier témoin, au cinquième prélèvement.

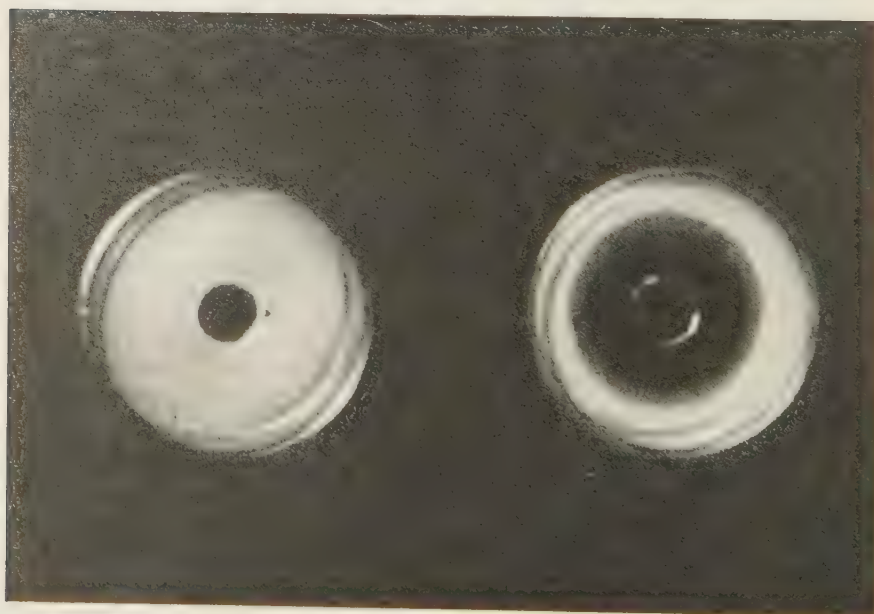
Progressivement, la concentration du sucre lysozymé diminue dans la salive, l'action du lysozyme cesse sur les germes, et rapidement leur nombre tend vers la valeur initiale ou témoin. Le renouvellement des germes progresse lentement pendant la période où les traces de sucre lysozymé sont présentes dans la salive ; l'équilibre numérique se rétablit rapidement lorsque la réaction de Molish est négative.

L'action du lysozyme dans le sucre a empêché la flore buccale de métaboliser le sucre : la manifestation la plus tangible apparaît dans les dix minutes qui suivent l'ingestion de sucre lysozymé, et au bout de dix minutes après l'absorption de 5 grammes de sucre, il n'y a plus trace de goût sucré dans la bouche. L'action du lysozyme cesse avec la disparition des dernières traces de sucre du milieu buccal, et la flore microbienne autochtone retrouve son équilibre numérique.



BIOGRAMME

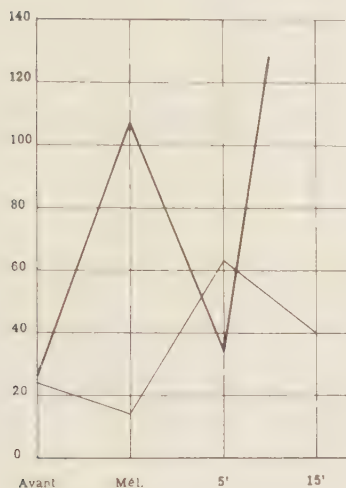
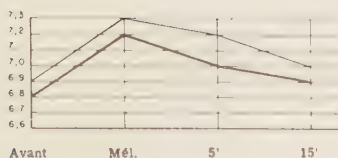
- 1 : Salive témoin (sans sucre) — Absorption de 5 g de sucre
- 2 : Echantillon après déglutition du sucre lysozymé
- 3 : Echantillon 10 mn après
- 4 : » 15 » »
- 5 : » 30 » » — Retour vers la normale



BIOGRAMME AVEC *Micrococcus lysodeikticus*

A gauche : sucre normal — A droite : sucre lysozymé à 20 γ

Variations de la concentration en substances lytiques
avant et après absorption de sucre normal et
de sucre lysozyme à 25 γ/gr.



SUCRE NORMAL

Mme SE N° 33	pH	Subst. lytique
Avant	6,9	24
Mélange sucre salive	7,3	14
5' après déglutition	7,2	63
15' après déglutition	7,0	40

SUCRE LYSOZYME

Avant	6,8	26
Mélange sucre salive	7,2	108
5' après déglutition	7,0	34
10' après déglutition	6,9	128

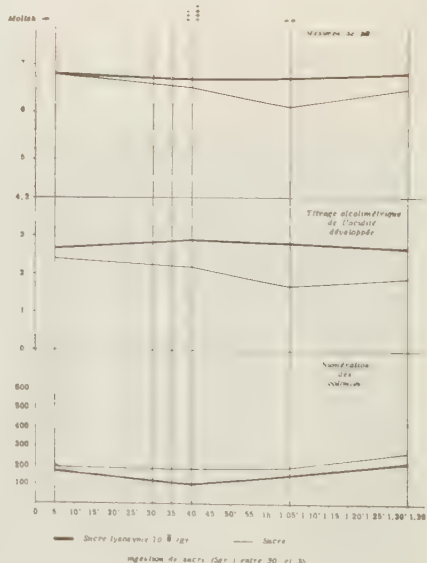
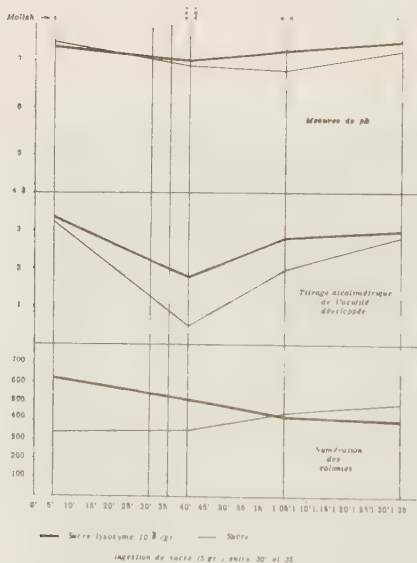
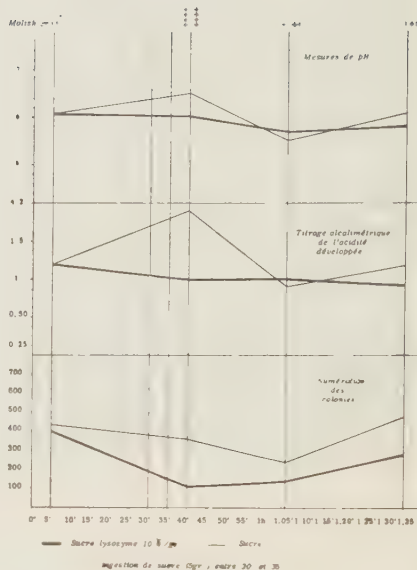
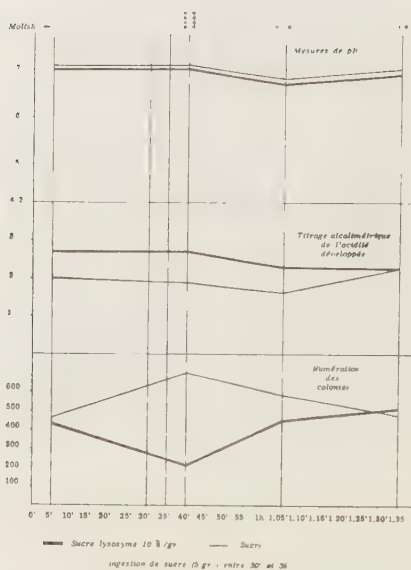
Les concentrations en substances lytiques sont exprimées en γ par ml de salive.

VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCES LYTIQUES,
DE LA SALIVE EN PRESENCE DE SUCRE ET DE SUCRE LYSOZYME

TABLEAU N° 3

N°	0' Prélèvement témoin Subst. lyt.	Ingestion du sucre et déglutition	10' 2ème Prélèvement Subst. lyt.	45' 3ème Prélèvement Subst. lyt.
1	18 γ	Sucre	18 γ	20 γ
"	25 γ	Sucre lys.	38 γ	29 γ
2	22 γ	Sucre	40 γ	40 γ
"	28 γ	Sucre lys.	35 γ	30 γ
3	25 γ	Sucre	30 γ	28 γ
"	25 γ	Sucre lys.	35 γ	30 γ
4	20 γ	Sucre	25 γ	28 γ
"	20 γ	Sucre lys.	30 γ	30 γ
5	Traces	Sucre	8 γ	5 γ
"	"	Sucre lys.	15 γ	12 γ
6	3 γ	Sucre	20 γ	20 γ
"	5 γ	Sucre lys.	30 γ	28 γ
7	18 γ	Sucre	8 γ	10 γ
"	32 γ	Sucre lys.	29 γ	24 γ
8	24 γ	Sucre	63 γ	40 γ
"	26 γ	Sucre lys.	34 γ	128 γ
9	36 γ	Sucre	80 γ	79 γ
"	185 γ	Sucre lys.	150 γ	145 γ

Chaque dosage est répété deux fois sur le même sujet à 24 heures d'intervalle, le premier jour il est ingéré 5 gr. de sucre, le deuxième jour 5 gr. de sucre lysozyme, à 10 γ/gr. pour les numéros 1 à 7 et à 25 γ/gr. pour les numéros 8 et 9



Graphiques établis avec des échantillons provenant d'une même salive après absorption de sucre normal et de sucre lysozymé (*trait gras*)

CHAPITRE V

EXPÉRIMENTATION ANIMALE

Deux groupes de rats blancs, Commentry, âgés de un mois, pesant en moyenne de 90 à 100 grammes, ont reçu une alimentation composée complète, à raison de 15 grammes par jour et par rat, avec deux fois par semaine de la salade ou des carottes crues, et trois fois par semaine une ration supplémentaire de pain, à raison de 10 grammes par rat.

La composition du régime est la suivante : maïs, orge, avoine, son fin, déchets de pâtes, arachides, soja cuit, levure, viande, poisson, concentré minéral. Ce qui garantit aux 100 grammes :

Maximum :

- matières cellulósiques : 6 % ;
- matières minérales : 9 %.

Minimum :

- matières protéiques brutes : 14 % ;
- matières grasses : 4 % ;
- vitamine A : 55.000 U.I. ;
- vitamine D : 50.000 U.I.

En supplément de ce régime, ils ont reçu :

- le premier groupe : du sucre cristallisé normal, à raison de 10 grammes par jour et par rat ;
- le second groupe : du sucre lysozymé à 10 γ par gramme, à raison de 10 grammes par jour et par rat.

Après neuf mois de ce régime alimentaire librement consommé, la moitié des animaux de chaque groupe a été sacrifiée, les maxillaires prélevés et les dents examinées au microscope binoculaire en épiphot.

RESULTATS

— Les molaires des rats du premier groupe présentent, en général, un émail terne et grisâtre, une assez forte pigmentation des sillons et des fossettes, ainsi qu'une décalcification avec début de cavitation. L'émail des cuspides et des faces vestibulaires et linguales est fréquemment taché. Il n'a pas été noté de grands délabrements, comme ceux obtenus lorsque l'on use de régimes alimentaires déséquilibrés.

— Les molaires des rats du second groupe présentent, en général, un émail brillant et sain, avec une faible pigmentation au niveau des fossettes et des sillons.

Les hydrates de carbone, non collants, bien dissous par la salive et rapidement déglutis, sont moins agressifs pour les dents, lorsque l'animal reçoit une alimentation équilibrée et distincte, et se trouve maintenu en bonne santé.

L'introduction de lysozyme dans le sucre, même à faible concentration (10 γ par gramme), a un effet protecteur. La protection exercée par le sucre lysozymé a permis de constater que le nombre des dents maintenues saines, c'est-à-dire exemptes de zones décalcifiées et pigmentées, est deux fois plus élevé chez les rats ayant absorbé du sucre lysozymé, que chez les rats ayant absorbé du sucre normal.

L'expérience a été prolongée pour l'autre moitié des rats dans chaque groupe, pendant trois mois. Le régime alimentaire n'a pas été modifié; seule l'introduction du sucre dans ce régime a subi, en présentation et en poids, les modifications suivantes :

- sucre en morceaux au lieu de sucre cristallisé ;
- 5 grammes par jour au lieu de 10 grammes.

Le deuxième groupe a reçu du sucre lysozymé à la concentration de 25 γ par gramme, au lieu de 10 γ par gramme.

L'examen des dents pratiqué dans les mêmes conditions que précédemment, montre que :

— Les molaires des rats du premier groupe ayant reçu du sucre normal en morceaux dans leur alimentation, présentent de fortes pigmentations au niveau des sillons et des fossettes, ainsi qu'une décalcification préparatoire à un début de cavitation pour presque tous les sillons. Des caries se présentent chez 33 % des rats ; dans plusieurs cas, la couronne dentaire est complètement détruite. De plus, dans 100 % des cas, on constate une ostéolyse alvéolaire étendue à toutes les dents.

— Dans le deuxième groupe de rats ayant reçu dans leur alimentation du sucre en morceaux lysozymé à 25 γ par gramme, les molaires

présentent de faibles pigmentations au niveau des fossettes et des sillons, et quelques zones plus ou moins décalcifiées (12 %). Dans aucun cas, ces rats ne présentent de caries étendues ; on ne relève que quelques lésions au stade initial. On ne rencontre de polyalvéolyse que dans 0,62 % des cas.

Ainsi des caries dentaires sont apparues chez des rats soumis à un régime alimentaire normal, bien équilibré, auquel une ration de sucre librement consommé est ajoutée. L'introduction du lysozyme à des concentrations comprises entre 10 et 25 γ par gramme dans le sucre consommé par un autre groupe d'animaux, et dans les mêmes conditions de régime alimentaire, freine l'apparition de la carie dentaire.

CONCLUSION

Les renseignements que l'on possède actuellement sur la carie dentaire montrent que la flore microbienne se développant dans le milieu salivaire, est productrice d'acides par son métabolisme ; et, selon les théories basées sur les travaux de MILLER, les acides sont responsables de la destruction des dents.

Le lysozyme, par ses trois modes d'action sur les micro-organismes, est la plus efficace des substances bactéricides présentes dans le milieu salivaire. Il jouerait donc le rôle le plus important dans la défense naturelle de l'organisme, contre la carie dentaire.

Son taux, augmenté dans la salive par un apport mélangé à du sucre ingéré, taux optimum déterminé par l'expérimentation, paraît neutraliser, pendant son passage dans la cavité buccale, la dégradation du sucre. Il s'ensuit un abaissement de la production acidogénique, en diminuant la quantité d'hydrates de carbone métabolisés.

Le lysozyme, en présence d'aliments cariogènes, et à des doses supérieures aux concentrations physiologiques dans la salive, pourrait-il marquer un progrès dans la prophylaxie locale de la carie dentaire ? Des travaux à venir, de plus en plus nombreux et principalement des observations en clinique humaine, pourraient l'établir.

Vu, le Doyen :
BINET

Vu, le Président de Thèse :
DECHAUME

Vu et Permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

- CAFLISH (R.P.). — Les substances bactéricides du milieu buccal. (Masson, Roth, p. 47. Bibliographie.)
- DECHAUME (M.), GOGUEL (S.) et POUILLAIN. — La salive humaine. (*Revue Stomatologique*, août septembre 1950. Bibliographie.)
- DELAUNAY (A.). — Le lysozyme hier et aujourd'hui. (*Congrès d'Hygiène Bucco-Dentaire*, 1960 ; — *Hygie*, janvier 1961, p. 5.)
- DUBOIS-PRÉVOT (R.). — Le sucre lysozymé et milieu buccal. (*Congrès d'Hygiène Bucco-Dentaire*, 1960 ; — *Hygie*, janvier 1961, p. 8. Bibliographie.)
— *Entretiens de Bichat*, 1960.
- GRULA (E.A.) et HARTSELL. — Action du lysozyme et son rapport avec l'effet Nakamura. (*J. of Bact.*, 1954, t. 68, p. 302. Bibliographie.)
- HOERMAN. — Le lysozyme, ses caractéristiques dans la salive parotidienne, sous-maxillaire et sublinguale. (*Proc.*, 1956, t. 92, n° 4, p. 875.)
- JOSEPH (J.H.) et SHAW. — Activité du lysozyme. (*Bacteriological Proceeding*, 1951, p. 122.)
- MURACCIOLE (J.C.M.). — Variation de l'alcalinité titrable de la salive après rinçage de la bouche avec du glucose à 20 %. (*Bulletin du Groupement International pour la Recherche en Stomatologie*, 1960, n° 2, 5, p. 225.)
- PÉRUGINI (S.). — Action du lysozyme sur la coagulation du sang. (*La Presse Médicale*, 17 avril 1957, p. 719.)
- SCOLARI (E.G.). — Le lysozyme contre les douleurs des cancéreux. (*II^e Symposium International sur le Lysozyme* — *La Presse Médicale*, 15-22 juillet 1961, n° 34, p. 1563.)
- SHAW (H.). — Agents inhibiteurs de caries. (*Revue Pharmacologique*, 1959, 11, p. 705.)

